Nancy-Université
Université Henri Poincaré

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

➢ Contact SCD Nancy 1 : theses.sante@scd.uhp-nancy.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

ACADEMIE DE NANCY-METZ

UNIVERSITE HENRI POINCARE-NANCY 1
FACULTÉ DE CHIRURGIE DENTAIRE

Année 2011 Nº 3565

THÈSE

Pour le

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

Par

BEMER Marine

Née le 27/10/1986 à Nancy

NOUVELLES APPROCHES BIOLOGIQUES DE LA RÉGÉNÉRATION PARODONTALE ET OSSEUSE

Présentée et soutenue publiquement le 21 avril 2011

Examinateurs de la thèse :

Pr P. AMBROSINI	**Professeur des Universités**	**Président**
Dr N. MILLER	**Maître de conférences des Universités**	**Directeur de thèse**
Dr C. BISSON	**Maître de conférences des Universités**	**Juge**
Dr J.M. MARTRETTE	**Maître de conférences des Universités**	**Juge**

Nancy-Université
Université Henri Poincaré

Faculté d'Odontologie

Président : Professeur J.P. FINANCE ***Doyen : Docteur Pierre BRAVETTI***

Vice-Doyens : Pr Pascal AMBROSINI – Dr Jean-Marc MARTRETTE

Membres Honoraires : Dr L. BABEL – Pr. S. DURIVAUX – Pr A. FONTAINE – Pr G. JACQUART – Pr D. ROZENCWEIG - Pr M. VIVIER

Doyen Honoraire : Pr J. VADOT

Sous-section 56-01 Odontologie pédiatrique	Mme M. M. Mlle Mlle	**DROZ Dominique (Desprez)** PREVOST Jacques BOCQUEL Julien COSTER Charlotte PHULPIN Bérengère		Maître de Conférences* Maître de Conférences Assistant Assistante Assistante
Sous-section 56-02 Orthopédie Dento-Faciale	Mme M. Mlle M.	**FILLEUL Marie Pierryle** BOLENDER Yves PY Catherine EGLOFF Benoît		Professeur des Universités* Maître de Conférences Assistante Assistant
Sous-section 56-03 Prévention, Epidémiologie, Economie de la Santé, Odontologie légale	M.	*Par intérim ARTIS Jean Paul* JANOT Francis Poste transféré en 57-02		Professeur 1er grade Professeur Contractuel Assistant
Sous-section 57-01 Parodontologie	M. Mme M. M. M. M.	**AMBROSINI Pascal** BOUTELLIEZ Catherine (Bisson) MILLER Neal PENAUD Jacques GALLINA Sébastien JOSEPH David		Professeur des Universités* Maître de Conférences* Maître de Conférences Maître de Conférences Assistant Assistant
Sous-section 57-02 Chirurgie Buccale, Pathologie et Thérapeutique Anesthésiologie et Réanimation	M. M. M. M. M. M. Mlle Mlle	**BRAVETTI Pierre** ARTIS Jean-Paul VIENNET Daniel WANG Christian BALLY Julien CURIEN Rémi GUILLET Julie SOURDOT Alexandra		Maître de Conférences Professeur 1er grade Maître de Conférences Maître de Conférences* Assistant (ex 58-01) Assistant Assistante (ex 56-03) Assistante
Sous-section 57-03 Sciences Biologiques (Biochimie, Immunologie, Histologie, Embryologie, Génétique, Anatomie pathologique, Bactériologie, Pharmacologie)	M. M. Mlle	**WESTPHAL Alain** MARTRETTE Jean-Marc ERBRECH Aude		Maître de Conférences* Maître de Conférences* Assistante Associée au 01/10/2007
Sous-section 58-01 Odontologie Conservatrice, Endodontie	M. M. M. M. M. Mlle	**ENGELS-DEUTSCH Marc** AMORY Christophe MORTIER Eric CUNY Pierre HESS Stephan PECHOUX Sophie		Maître de Conférences Maître de Conférences Maître de Conférences Assistant Assistant Assistante
Sous-section 58-02 Prothèses (Prothèse conjointe, Prothèse adjointe partielle, Prothèse complète, Prothèse maxillo-faciale)	M. M. M. M. M. Mlle Mlle Mlle M.	**LOUIS Jean-Paul** ARCHIEN Claude DE MARCH Pascal SCHOUVER Jacques BARONE Serge BEMER Julie MONDON Hélène RIFFAULT Amélie SIMON Franck		Professeur des Universités* Maître de Conférences* Maître de Conférences Maître de Conférences Assistant Assistante Assistante Assistante Assistant
Sous-section 58-03 Sciences Anatomiques et Physiologiques Occlusodontiques, Biomatériaux, Biophysique, Radiologie	Mlle M. Mme M. Mme	**STRAZIELLE Catherine** RAPIN Christophe (Section 33) MOBY Vanessa (Stutzmann) SALOMON Jean-Pierre JAVELOT Cécile (Jacquelin)		Professeur des Universités* Professeur des Universités Maître de Conférences* Maître de Conférences Assistante Associée au 01/01/2009

souligné : ***responsable de la sous-section*** * temps plein

Mis à jour le 01.03.2011

Par délibération en date du 11 décembre 1972,
la Faculté de Chirurgie Dentaire a arrêté que
les opinions émises dans les dissertations
qui lui seront présentées
doivent être considérées comme propres à
leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner
aucune approbation ni improbation.

REMERCIEMENTS

À notre président de thèse,
Monsieur le Professeur Pascal AMBROSINI

Docteur en Chirurgie Dentaire
Docteur de l'Université Henri Poincaré, Nancy I
Vice-Doyen au budget et aux affaires hospitalières
Habilité à diriger des Recherches
Professeur des Universités
Responsable de la Sous-section : Parodontologie

Vous nous avez fait l'honneur
d'accepter la Présidence de cette thèse.
Nous nous souviendrons de la qualité
de l'enseignement théorique et clinique
que vous nous avez prodigués pendant
nos années d'études.
Veuillez trouver l'expression de nos
remerciements les plus sincères.

À notre juge et directeur de thèse,
Monsieur le Docteur Neal MILLER

Docteur en chirurgie Dentaire
Docteur en Sciences Odontologiques
Docteur d'Etat en Odontologie
Maître de Conférences des Universités
Sous-section : Parodontologie

Nous vous remercions sincèrement de nous avoir fait l'honneur de bien vouloir diriger cette thèse et d'avoir montrer le plus grand intérêt à son élaboration.
Nous nous souviendrons de l'excellent enseignement que vous nous avez apporté, mais également de la pédagogie que vous avez pu nous délivrer au cours de la formation d'assistante à vos côtés.
Nous vous prions de trouver dans ce travail toute l'expression de notre gratitude.

À notre juge,
Madame Catherine BISSON

Docteur en Chirurgie Dentaire
Docteur de l'université Henri Poincaré, Nancy-I
Maître de Conférences des Universités
Sous-section : Parodontologie

Nous vous remercions d'avoir accepté de faire partie de ce jury.
Nous vous remercions également de la qualité de votre enseignement et de votre gentillesse durant toutes ces années d'études.
Nous vous prions de trouver dans ce travail toute l'expression de notre gratitude.

À notre juge,
Monsieur le Docteur Jean-Marc MARTRETTE

Docteur en Chirurgie Dentaire
Vice Doyen à la Pédagogie
Docteur en Sciences Pharmacologiques
Maître de Conférences des Universités
Sous-section : Sciences biologique : Biochimie, Immunologie, Histologie, Embryologie, Génétique, Anatomie Pathologique, Bactériologie, Pharmacologie

Nous sommes très sensibles à votre présence au sein de ce jury.
Nous garderons en mémoire votre disponibilité et votre pédagogie, ainsi que votre sympathie lors des stages hospitaliers.
A travers ce travail, veuillez trouver l'expression de notre gratitude.

Je dédie cette thèse à Mamie Huguette et Papi Norbert, qui j'espère sont fiers de moi de là où ils sont.

À Jean-Louis, ,
Merci de m'avoir supporté pendant l'élaboration de cette thèse. Mais surtout merci d'être toujours là pour moi, et ce pour encore très longtemps je l'espère.

À mes parents,
J'espère que vous êtes fiers de moi. Merci de m'avoir donné le goût du travail et l'envie de toujours avancer. Je vous suis reconnaissante de l'éducation que vous m'avez apportée.

À ma soeur, Margaux,
Ton tour ne tardera pas. J'espère que je t'ai donné le bon exemple dans ce parcours universitaire, et peut-être que d'ici quelques années nous pourrons travailler ensemble.

À mon frère, Quentin,
Je suis heureuse de t'avoir comme frère, et de profiter des moments passés ensemble. Je te souhaite le même bonheur pour la fin de tes études.

À mes grands-parents, Mamie Denise et Papi Jean-Marie,
J'espère vous avoir encore très longtemps à mes côtés. Vous avez toujours su aimer comme il le faut vos petits enfants, et j'espère vous le rendre comme il se doit.

À mes grands-parents, Mamie Huguette et Papi Norbert,
De là où vous êtes j'imagine que vous avez toujours vos petites chamailleries, mais toujours pleines d'amour. Vous m'avez beaucoup appris, nos jeux de sociétés et vos leçons d'histoire me manque. Je pense beaucoup à vous.

À ma famille,
Mes oncles et mes tantes : Martine, Jean-Marc, Martin...à tous nos repas de famille dans la joie et la bonne humeur,
Mes cousins et cousines : Marie-Coline, Florent...je vous adore.

À mes amis,
Jean, Dany, Pierre, Florent, Gonca, Bahiya, Jonathan, Georgia, Solenne,...j'aurai toujours le souvenir de ces années passées à vos côtés, bon courage à ceux qui sont encore dans la course.

À la famille de Jean-Louis,
Merci de m'avoir acceptée parmi vous, je vous apprécie énormément.

Au Docteur Lecuivre,
Je vous remercie de m'avoir accueillie pour mes premiers pas dans la profession. J'espère suivre le même exemple que vous.

Au Docteur Mantovani,
Vous avez su m'accueillir dans votre équipe. En espérant que cette collaboration s'étende sur plusieurs années.

Table des matières

Index des tables 4
Index des illustrations 4
1 Introduction 5
2 Généralités 7
2.1 Principes biologiques de base 7
2.1.1 Biologie de la régénération osseuse 7
2.1.2 Étapes de la régénération parodontale 8
2.1.3 Les facteurs dont dépend la régénération 8
2.2 Difficultés biologiques 9
2.2.1 La compétition tissulaire entre l'os et la gencive 9
2.2.2 L'interface dent-gencive 9
2.2.2.1 L'accumulation bactérienne 9
2.2.2.2 La vascularisation 9
2.2.3 La résistance des tissus parodontaux régénérés au stress mécanique 10
2.2.4 L'architecture de la lésion 10
3 L'approche biologique 11
3.1 Induction et différenciation cellulaire avec des facteurs de croissance ou des protéines 11
3.1.1 Les différents facteurs de croissance 11
3.1.2 Application d'un seul facteur 13
3.1.2.1 Introduction 13
3.1.2.2 Les BMP 13
3.1.2.2.1 Découverte 13
3.1.2.2.2 Définition 14
3.1.2.2.3 Le génie génétique, rh (recombinant human) 14
3.1.2.2.3.1 Production 15
3.1.2.2.3.2 Support 15
3.1.2.2.3.3 Résultats des études chez l'animal 16
3.1.2.2.3.4 Études cliniques 16
3.1.2.2.3.5 Discussion 19
3.1.2.2.3.6 Risques et effets indésirables 19
3.1.2.2.3.7 Contre-indications 20

3.1.2.2.4 Etudes odontologiques....20
3.1.2.2.5 Infuse Bone Graft®/Inductos® (rhBMP2)....22
3.1.2.2.6 Osigraft®/OP-1 (rhBMP7)....26
3.1.2.3 rhPDGF-BB....28
3.1.2.3.1 Rôle et définition du PDGF....28
3.1.2.3.2 Etudes menées sur le PDGF-BB....28
3.1.2.3.3 GEM21S®....32
3.1.2.4 GDF-5....33
3.1.2.4.1 Introduction....33
3.1.2.4.2 Induction de la formation osseuse au niveau du crâne avec rhGDF-5 chez la souris , (Yoshimoto et coll, 2006)....34
3.1.2.4.3 L'activité inductive de rhGDF-5, (Spiro et coll, 2000)....35
3.1.2.4.4 Analyse de l'ostéochondro-induction de GDF-5 dans le muscle de rat, (Kakudo, Wang, 2007)....36
3.1.2.4.5 Augmentation de la crête alvéolaire avec du rhGDF-5, (Polimeni et coll, 2010)....36
3.1.2.5 Les statines....37
3.1.2.5.1 Introduction, rôle....37
3.1.2.5.2 Etudes sur l'effet ostéoinducteur....37
3.1.2.5.3 Etude « Stimulation de la formation osseuse par les statines », Mundy, 199938
3.1.3 Application de plusieurs facteurs....41
3.1.3.1 Les concentrés plaquettaires : PRP(Platelet-Rich Plasma) et PRF(Platelet-Rich Fibrin)....43
3.1.3.1.1 Historique....43
3.1.3.1.2 Composition et définition....43
3.1.3.1.3 Fabrication....44
3.1.3.1.4 Indications en odontologie....46
3.1.3.1.5 Contre-indications....47
3.1.3.1.6 Etudes cliniques....47
3.1.3.1.7 Choix PRP/PRF....48
3.1.3.2 EMD(dérivés de la matrice amélaire)....48
3.1.3.2.1 Définition....48
3.1.3.3 Pepgen P-15....49
3.1.3.3.1 Composition et définition....49

3.1.3.3.2 Etudes réalisées sur P-15 50
3.1.3.3.2.1 Etude sur les premiers effets de P-15 sur les cellules souches de la moelle osseuse, (Sollazo et coll, 2009) : 50
3.1.3.3.2.2 Etude sur ABM (matrice bovine)/P-15 dans la modulation de la synthèse et la prolifération des ARNm de facteurs de croissance des cellules du ligament parodontal, (Emecen et coll, 2009) : 50
3.1.3.3.3 Etudes cliniques sur Pepgen P-15 51
3.1.3.3.3.1 1ère étude (Yukna et coll, 1998) 51
3.1.3.3.3.2 2ème étude (Krauser et coll, 2000) 52
3.1.3.3.4 Mode d'emploi 53
3.2 Apport de cellules 55
3.2.1 Introduction 55
3.2.2 Apport à partir des cellules du patient 56
3.2.2.1 Apport de moelle osseuse fraiche 56
3.2.2.2 Apport de CSM après purification et multiplication cellulaire 56
3.2.2.3 Apport d'ostéoblastes déjà différenciés 57
3.2.2.4 Utilisation de cellules fœtales 57
3.2.2.5 Matériaux commercialisés 58
3.2.3 Apport de cellules génétiquement modifiées 59
3.2.3.1 Introduction 59
3.2.3.2 Difficultés techniques de la thérapie génique 60
3.2.3.3 Différents types de vecteurs 60
3.2.3.4 Deux stratégies thérapeutiques 61
3.2.3.5 Expression d'un seul facteur ostéoinducteur 63
3.2.3.6 Seconde génération d'approche de thérapie génique : l'interaction de gènes 64
3.2.3.6.1 Combinaison de BMP 64
3.2.3.6.2 Synergie avec des facteurs angiogéniques 64
3.2.3.6.3 Utilisation d'un facteur de transcription ostéogénique pour améliorer la réactivité des cellules souches à BMP 65
3.2.3.7 Futures stratégies de la thérapie génique pour prévenir des maladies parodontales 66
4 Conclusion 68
BIBLIOGRAPHIE 71

Index des tables

Tableau 1: Action des principaux facteurs de croissance (d'après Parodontie médicale, Choukroun 2003, p.351)....12
Tableau 2: Résultats à 8 semaines de l'étude de Sigurdsson sur rhBMP-2....20
Tableau 3: Résultats à 6 mois de l'étude de Jung sur rhBMP-2....20
Tableau 4: Résultats de l'étude de Boyne sur rhBMP-2....21
Tableau 5: Récapitulatif de l'"application d'un seul facteur"....40
Tableau 6: Résultats relatifs au défaut à 6-7 mois après application de P-15....52
Tableau 7: Cas faisant état de "résultats positifs" quant au remplissage du défaut avec P-15....52
Tableau 8: Récapitulatif de l'"application de plusieurs facteurs"....54
Tableau 9: Tableau comparatifs des différentes sources de cellules (Pioletti et coll, 2006)....58
Tableau 10: Récapitulatif de l'"apport de cellules"....67

Index des illustrations

Illustration 1: Les trois principales étapes dans le processus de cicatrisation (d'après Polimeni et coll, 2006)....7
Illustration 2: Coffret Infuse Bone Graft®....22
Illustration 3: Flacon d'Osigraft®....26
Illustration 4: Mode d'action des statines....37
Illustration 5: Injections en séries d'un médiateur biologique (d'après Polimeni et coll, 2006)....41
Illustration 6: Application d'une association de médiateurs biologiques (d'après Polimeni et coll, 2006)....42
Illustration 7: Méthode de production du PRP....45
Illustration 8: Technique de fabrication du PRF....46
Illustration 9: Coffret de Pepgen P-15®....49
Illustration 10: Les 2 approches de la thérapie génique....62

1 Introduction

La maladie parodontale entraîne la destruction des tissus de soutient de la dent. Pour y remédier, un défi s'impose à elle : régénérer les tissus parodontaux.

La régénération parodontale représente la croissance et la différenciation des nouvelles cellules et des nouvelles substances intercellulaires pour obtenir la formation d'un nouvel os et d'une nouvelle attache. Elle se différencie de la réparation qui est une cicatrisation qui ne restitue pas le système d'attache perdu.

Depuis plusieurs années différentes approches thérapeutiques couramment utilisées ont été développées. Elles se proposent d'assurer le réattachement des tissus mous à la surface radiculaire et de combler le déficit osseux.

Actuellement on utilise largement les biomatériaux comme substituts osseux dans la chirurgie parodontale. Ils sont placés dans la lésion, sont ostéoconducteurs et se résorbent pour laisser la place au nouvel os.

Il existe des biomatériaux d'origine naturelle : l'os autogène par prélèvement intra-buccal ou extra-buccal, l'os allogène (un donneur vers un receveur de même espèce, tels le FDBA ou DFDBA), l'os xénogène (le plus souvent d'origine porcine ou bovine) et le corail naturel (carbonate de calcium).

Il existe également des biomatériaux d'origine synthétique : les céramiques bioactives, les bioverres et les polymères.

De plus pour éviter le contact des cellules osseuses avec la surface radiculaire et retarder la prolifération épithéliale lors de la régénération (compétition tissulaire) a été créée la technique de la RTG (régénération tissulaire guidée) par la mise en place de membrane. Le premier cas a été décrit il y a une vingtaine d'années par Nyman. Ces membranes permettent la recolonisation sélective de la racine par les cellules desmodontales.

Mais différents problèmes se sont posés avec ces techniques actuelles : le prélèvement d'os autogène entraîne des complications post-opératoires ; la technique de préparation de l'os allogène visant à réduire la contamination est vraisemblablement à l'origine de la perte de capacité d'ostéoconduction de ces matériaux (Anagnostou et Hayoun, 2000) ; le risque de transmission des maladies à prions avec la greffe d'os xénogène ne peut être totalement écarté.

La découverte des mécanismes de la réparation a permis la recherche de nouvelles approches pour régénérer le parodonte, faisant appel aux agents réparateurs qui sont les molécules et les cellules.

Au niveau moléculaire les facteurs de croissance régulent les processus cellulaires, agissent sur la chimiotaxie, la prolifération, la différenciation et la synthèse protéinique.

Au niveau cellulaire l'apport de cellules souches mésenchymateuses (CSM) capables de se différencier ou d'exprimer un facteur de croissance par thérapie génique est une avancée considérable.

Cette thèse se propose de faire le point sur les nouvelles thérapeutiques mises sur le marché ou en voie de le devenir.

2 Généralités

2.1 Principes biologiques de base

2.1.1 Biologie de la régénération osseuse

Le processus régénératif nécessite trois évènements :

- Le recrutement, qui concerne une migration des cellules ostéoprogénitrices vers le site de réparation.
- La modulation, qui représente l'activation de cellules ostéoprogénitrices et leur différenciation en ostéoblastes actifs.
- L'ostéoconduction, qui implique la formation d'un échafaudage tridimensionnel sur lequel les ostéoblastes déposent de l'os nouveau.

La régénération osseuse nécessite trois conditions :

- Un signal morphogénétique.
- Une population de cellules répondant au signal et capable d'assurer un phénotype ostéogénique.
- Une matrice pour délivrer le signal et agir comme un échafaudage pour le recrutement des cellules, l'attachement, la prolifération et la différenciation .

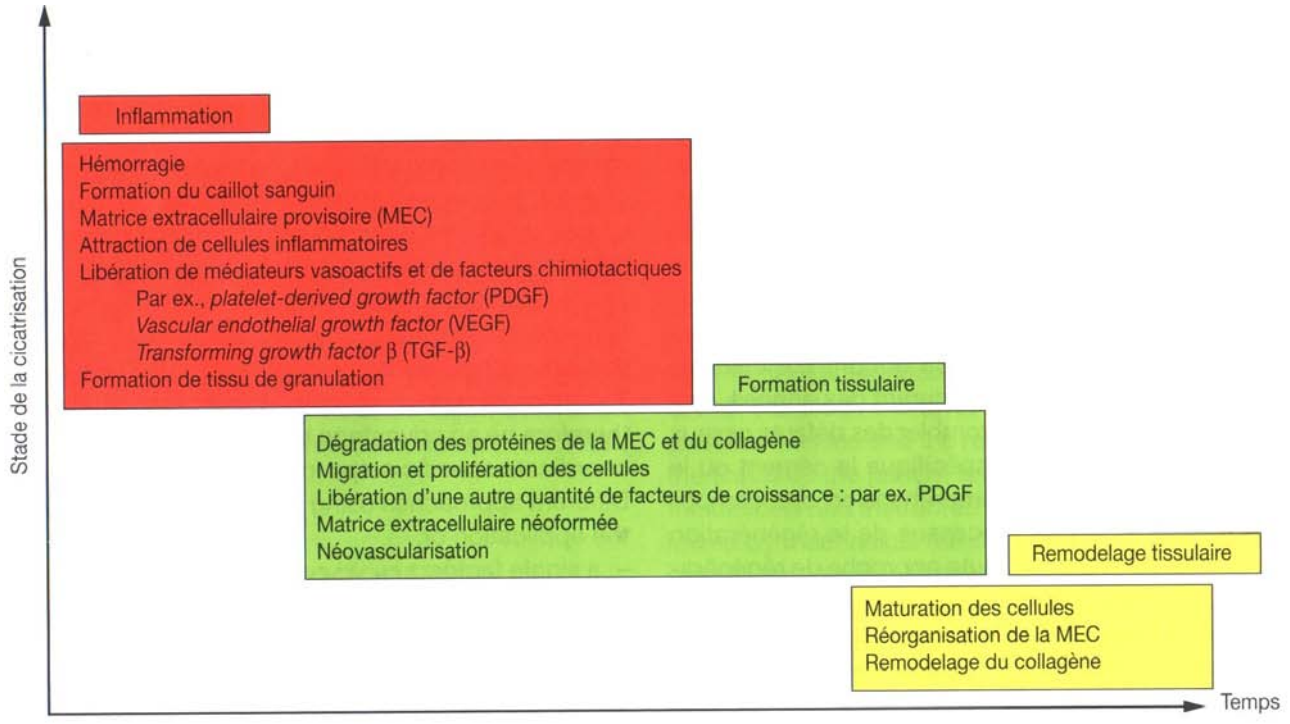
Stade de la cicatrisation
Inflammation
Hémorragie
Formation du caillot sanguin
Matrice extracellulaire provisoire (MEC)
Attraction de cellules inflammatoires
Libération de médiateurs vasoactifs et de facteurs chimiotactiques
Par ex., platelet-derived growth factor (PDGF)
Vascular endothelial growth factor (VEGF)
Transforming growth factor β (TGF-β)
Formation de tissu de granulation
Formation tissulaire
Dégradation des protéines de la MEC et du collagène
Migration et prolifération des cellules
Libération d'une autre quantité de facteurs de croissance : par ex. PDGF
Matrice extracellulaire néoformée
Néovascularisation
Remodelage tissulaire
Maturation des cellules
Réorganisation de la MEC
Remodelage du collagène
Temps

Illustration 1: Les trois principales étapes dans le processus de cicatrisation (d'après Polimeni et coll, 2006)

Les étapes principales du processus de cicatrisation sont une phase inflammatoire, une phase de formation tissulaire et une phase de remodelage tissulaire. Des molécules de signalisation jouent un rôle important à toutes les étapes de la cicatrisation (Sautier et coll, 1999).

2.1.2 Étapes de la régénération parodontale

Il y a trois étapes sur lesquelles repose la régénération parodontale :

- L'élimination des facteurs étiologiques (agents infectieux de la plaque et du tartre). Cela nécessite l'apprentissage du contrôle de plaque par le patient pour une bonne hygiène dentaire,ainsi que l'élimination mécanique de la plaque et du tartre.
- L'arrêt de la destruction des tissus durs et mous, c'est-à-dire l'élimination de l'inflammation et du saignement gingival par suppression des poches parodontales, entrainant aussi l'éradication de l'infection, la réduction des mobilités dentaires et la disparition de la douleur.
- La reconstruction des tissus perdus, par réparation ou régénération au niveau des lésions infra-osseuses.

(Bosshardt, 2008)

2.1.3 Les facteurs dont dépend la régénération

La régénération parodontale dépend de plusieurs facteurs qui sont :

- L'influence biologique des lignées cellulaires
- Les facteurs angiogéniques
- Les facteurs de croissance
- Les enzymes protéolytiques
- Le caillot sanguin
- L'architecture de la lésion

(Cochran et coll, 2010)

2.2 Difficultés biologiques

La régénération parodontale doit prendre en compte certains défis qui s'imposent à elle.

2.2.1 La compétition tissulaire entre l'os et la gencive

Le réseau de fibrine constituant l'armature du caillot sanguin, épicentre de la réponse biologique dans la réparation tissulaire, sert de support physique à la prolifération et à la migration cellulaire.

Sous l'influence de médiateurs locaux à capacité chimiotactique libérés par l'agression tissulaire, les cellules se clonent et migrent vers leur site d'élection ; en présence de leurs récepteurs spécifiques, elles cessent leur migration, pour parachever la réorganisation tissulaire et remplir leur fonction particulière.

Selon leur spécificité et leur localisation, les cellules indifférenciées du desmodonte donnent selon leur phénotype des pré-cémentoblastes, des fibroblastes non-matures, ou des pré-ostéoblastes, qui après activation vont former la matrice extra-cellulaire du cément, du desmodonte ou de la corticale interne de l'os alvéolaire.

La migration cellulaire est l'objet d'une compétition entre ces cellules non-matures et les cellules épithéliales, qui envahissent très rapidement la zone opérée, ou les fibroblastes de l'appareil d'attache conjonctif de la gencive, capables tous deux d'inhiber la régénération desmodontale (Melcher, 1976).

Un moyen d'influencer cette compétition est de mettre en place une membrane pour les matériaux utilisés pour la régénération (Sigurdsson, 1994).

2.2.2 L'interface dent-gencive

2.2.2.1 L'accumulation bactérienne

Il est nécessaire de recréer un environnement sain avant d'espérer une régénération parodontale, car l'accumulation bactérienne entretient un environnement inflammatoire qui est propice à la destruction des tissus.

2.2.2.2 La vascularisation

Le caillot sanguin est l'élément clé de la réparation des tissus. Il est en effet un réservoir provisoire contenant les facteurs moléculaires. Après avoir rendue l'interface cémentaire biocompatible avec l'adsorption du caillot sanguin par décontamination, celle-ci ne doit ni être

perturbée par l'interposition de molécules antiagrégantes, ni par les forces de traction centripètes s'exerçant sur les berges de la plaie susceptibles de déstabiliser le lien qui se crée à l'interface racine-caillot (Wikesjö et Nilveus, 1990).

Le caillot sanguin va subir différentes étapes : la phase précoce d'inflammation, la phase tardive de formation et maturation en tissu de granulation, et sa transformation en matrice qui évoluera par remodelage. Les plaquettes occupent ici une place importante en libérant des molécules signal (facteurs de croissance tels que : PDGF, FGF, BMP). Ces médiateurs biologiques accélèrent la régénération parodontale et osseuse (Singer et Clark, 1999).

Un autre problème se pose avec la vascularisation du site de régénération : les alvéolyses horizontales. En effet la vascularisation ne peut se faire au dessus des limites de la crête osseuse, ainsi la régénération parodontale et osseuse ne peut se réaliser coronairement à l'alvéolyse horizontale.

2.2.3 La résistance des tissus parodontaux régénérés au stress mécanique

Celle-ci est encore peu étudiée. Les tissus parodontaux transmettent des forces à leur environnement grâce à des mécano-récepteurs. Si ces derniers ne peuvent être recréés les tissus parodontaux ne vont pas pouvoir résister correctement aux forces qui leur sont transmises (Rahaman et Mao, 2005).

2.2.4 L'architecture de la lésion

La forme de la lésion conditionne la formation du caillot sanguin. Plus la lésion est large, plus la vascularisation aura du mal à se faire, avec une moins bonne régénération parodontale.

Également vu précédemment les formes d'alvéolyses horizontales qui empêchent la formation de caillot sanguin coronairement aux crêtes osseuses.

3 L'approche biologique

La nouvelle approche biologique de la régénération parodontale exploite deux types de thérapie :

- La thérapie moléculaire, qui consiste à utiliser des facteurs de croissance ou de différenciation permettant d'activer in situ les cellules souches.
- La thérapie cellulaire où l'on utilise les propres cellules du patient.

3.1 Induction et différenciation cellulaire avec des facteurs de croissance ou des protéines

Les médiateurs biologiques, notamment les facteurs de croissance, sont directement impliqués dans la cicatrisation parodontale. La combinaison de vecteurs (substituts osseux), et de ces médiateurs est très prometteuse puisque certains sont présents dans le caillot sanguin ou interviennent dans l'édifice de la MEC (matrice extra-cellulaire) autant que dans l'attachement des cellules entre elles, leur activité métabolique, leur croissance et leur différenciation (Cohen, 1986).

3.1.1 Les différents facteurs de croissance

Les facteurs de croissance sont des médiateurs cellulaires mitogènes (polypeptides) qui influent de diverses manières sur la croissance et les fonctions de différentes cellules. Les facteurs de différenciation déterminent les phénotypes des cellules non matures : sous leur influence, les cellules souches multipotentes deviennent matures et fonctionnelles. Les ostéoblastes se développent ainsi à partir de cellules mésenchymateuses sous l'effet des BMP. Employés avec différents véhicules (matériaux de comblements osseux ou collagène), ces facteurs sont de plus en plus utilisés pour accélérer et améliorer la régénération parodontale.

Il existe trois grandes familles de facteurs de croissance : IGF (insulin growth factor), PDGF (platelet-derived growth factor), TGF-β (transforming growth factor)(dont les BMP : bone morphogenetic protein).

- PDGF : C'est une glycoprotéine d'un poids moléculaire de 30 KDa. Il a été démontré qu'elle stimulait la réplication cellulaire des pré-odontoblastes situés à l'intérieur du tissu osseux cicatriciel, des cellules endothéliales (néo-angiogénèse) et la migration des cellules périvasculaires (macrophages). Elle a un effet chimiotactique sur les cellules du ligament parodontal et sur la promotion de la synthèse collagénique.

Elle stimule la cicatrisation des tissus mous et potentialise les autres facteurs de croissance comme IGF-1(Singer et coll, 1999)

- TGF : C'est une super famille de plus de trente facteurs de croissance. Les mieux caractérisés sont TGF-α, TGF-β et BMP.

  Le TGF-α: D'un poids moléculaire de 5600 Da, il stimule les cellules épithéliales et endothéliales.

  Le TGF-β : Son poids moléculaire est de 25000 Da. C est un régulateur majeur de la réplication et de la différenciation cellulaire, il intervient dans la cicatrisation tissulaire et la régénération osseuse. Il inhibe la prolifération des cellules épithéliales et stimule les cellules conjonctives. Il a un effet chimiotactique sur les fibroblastes et leur prolifération. Il stimule et inhibe à la fois la prolifération osseuse. Il peut également moduler d'autres facteurs de croissance.

  Les BMP : Cette partie sera plus approfondie ultérieurement. On peut déjà souligner que les BMP sont abondantes dans la matrice osseuse, et que ce sont les seuls facteurs connus pour avoir des propriétés ostéoinductrices.
- IGF : IGF-1 et IGF-2. Ils ont un rôle dans la formation osseuse : ils induisent la synthèse d'ostéoblastes et stimulent la formation de la matrice osseuse. Les IGF pourraient agir en synergie avec d'autres facteurs de prolifération comme PDGF.
- FGF (fibroblast growth factor) : Il a la faculté de promouvoir la croissance des fibroblastes et de stimuler les cellules quiescentes pour qu'elles entrent dans le cycle cellulaire. Il stimule également la formation de vaisseaux sanguins.

Facteur		Prolifération des fibroblastes	Prolifération des ostéoblastes	Synthèse de protéines matricielles	Différenciation des cellules mésenchymateuses	Vascularisation
PGDF	Facteur de croissance dérivé des plaquettes	++	++	–	–	+*
IGF	Facteur de croissance insuline-like	+	++	++	–	–
TGFβ	Facteur de croissance transformant bêta	+	+	++	–	++*
BMP	Protéines morphogéniques osseuses 2, 4, 7	–	+	+	++	++*
FGF	Facteur de croissance fibroblastique	++	++	–	–	++

Tableau 1: Action des principaux facteurs de croissance (d'après Parodontie médicale, Choukroun 2003, p.351)

Tableau : Effets sur l'activité :

++ très augmentée

+ augmentée

- pas d'effet ou effet négatif

** action indirecte*

Les médiateurs biologiques peuvent être soit utilisés en tant que facteur unique soit en association de facteurs.

3.1.2 Application d'un seul facteur

3.1.2.1 Introduction

L'effet des facteurs de croissance sur les différentes cellules dépend de la quantité utilisée, du nombre de récepteurs pour ces facteurs et du transporteur pour le facteur de croissance.

Les avantages des médiateurs biologiques en tant que facteurs uniques sont : un coût plus faible (que l'association de facteurs), potentiellement moins d'interaction, une cinétique de relargage plus facile à comprendre, moins d'effets indésirables et l'optimisation du transporteur pour le transport d'un seul facteur.

Aujourd'hui seuls deux médiateurs biologiques uniques ont obtenu l'autorisation de la FDA (Food and Drug Administration, Etats-unis), pour leur utilisation dans la cavité buccale : rhBMP-2/éponge de collagène résorbable et rhPDGF-BB/phosphate tricalcique β, ce qui sera développé dans les sous-parties.

3.1.2.2 Les BMP

3.1.2.2.1 Découverte

Elles ont été décrites pour la première fois par Urist en 1965.

De l'os déminéralisé induisait de l'os ectopique chez les rongeurs. Comme l'os apparaissait à distance des sites de cellules osseuses, cela impliquait que des cellules pluripotentes étaient attirées chimiotactiquement par un facteur encore inconnu qui induisait la formation d'os et de cartilage. L'isolement des protéines confirma la présence d'un facteur inducteur. Les chercheurs ont ensuite cloné une série de nouvelles protéines apparentées qu'ils ont qualifiées de BMP. Une fois clonées, il a pu être démontré sans équivoque que ces protéines étaient ostéoinductrices.

3.1.2.2.2 Définition

Ce sont des protéines de faible poids moléculaire, hydrosolubles quand elles sont pures. Elles appartiennent à la superfamille des TGF-β. Elles diffusent rapidement dans les tissus ce qui est incompatible avec la lenteur du processus d'ossification : il est donc nécessaire de l'incorporer à un vecteur qui la retient et qui peut servir aussi de moule de structure pour l'édification d'un os nouveau.

Elle a une action dose dépendante (si la dose est trop faible elle a peu d'action), ce qui explique que son action reste locale où elle est concentrée sans déborder la zone de diffusion, on ne retrouve pas d'action secondaire à distance.

Parmi les BMP identifiées seul un petit nombre (BMP-2, BMP-4, BMP-7, BMP-9) possèdent des propriétés ostéoinductrices et peuvent déclencher la différenciation des cellules souches mésenchymateuses et des cellules ostéoprogénitrices pour se transformer en ostéoblastes et pour favoriser la migration de cellules spécifiques à la formation osseuse à l'intérieur du défaut osseux.

Les BMP-2 et les BMP-7 sont celles qui ont généré le plus d'intérêt pour la régénération osseuse.

3.1.2.2.3 Le génie génétique, rh (recombinant human)

Il est possible de produire des protéines ostéoinductrices par génie génétique. Ces protéines s'appellent alors des rh BMP lorsqu'elles sont d'origine humaine.

Avant l'utilisation du génie génétique les BMP étaient extraites d'os animal, selon les étapes suivantes : (Jortikka et coll, 1993)

- Décapage mécanique des os longs diaphysaires
- Pulvérisation de la matrice osseuse
- Déminéralisation avec de l'urée
- Ultrafiltration
- Chromatographie

La séparation des BMP était extrêmement difficile car celles-ci sont presque totalement insolubles dans les solutions tampons classiques.

De plus de grandes quantités d'os étaient nécessaires pour produire une quantité suffisante de BMP (les BMP natives sont présentes dans l'os cortical en quantité infimes, environ 1-2 µg BMP/kg d'os cortical).

Les rhBMP nécessaires pour l'induction osseuse in vivo sont plus de 10 fois supérieures à l'extrait de BMP bovines purifiées (Bessho et coll, 1999).

3.1.2.2.3.1 Production

On prend des BMP d'origine bovine (b BMP) sur lesquelles on analyse les séquences d'acides aminés. On prend l'ADN complémentaire codant pour les protéines homologues chez l'homme (h BMP) et on l'intègre dans le génome de cellules animales ou de bactéries (par exemple E.Coli) que l'on met en culture qui vont donc exprimer la protéine BMP humaine recombinante rhBMP. On amplifie la mise en culture, puis on produit les protéines dans un bioréacteur. Celles-ci sont ensuite purifiées par chromatographie et filtration. Enfin elles subissent une lyophilisation.

On obtient à la fin un produit actif, pur, concentré, à dose stable, stérile, facile d'emploi et qui peut être conservé à température ambiante.

3.1.2.2.3.2 Support

Dans l'organisme les BMP sont libérées en fonction des besoins et la trame calcique leur sert de support. Il faut choisir un support capable d'adsorber les protéines recombinantes pour pouvoir les utiliser, et qui permet une libération progressive. Ce support doit également être ostéoconducteur et être résorbé en quelques mois.

Le matériau transporteur doit donc répondre aux exigences suivantes (Aldinger et coll, 1991) :

- Insolubilité relative dans les conditions physiologiques
- Biodégradabilité
- Protection contre l'activité protéolytique
- Substrat pour l'adhérence et la prolifération cellulaire
- Immunologiquement inerte
- Libération lente des BMP
- Stabilité mécanique

Peuvent servir de support tous les matériaux de comblement qui ont donc des propriétés ostéoconductrices, et pouvant fixer une quantité suffisante de protéines et les libérer complètement et progressivement.

On retrouve 5 catégories :

- Les matrices osseuses déminéralisées
- Les matières collagènes
- Les polymères synthétiques résorbables
- Les matériaux de phosphates de calcium
- Autres (bioverre, sulfate de calcium, colle de fibrine …)

Les tests in vitro et in vivo ont montré que les matériaux ayant les propriétés les plus adaptées étaient les suivants : les éponges de collagène, les substituts en phosphate de calcium, en phosphate tricalcique et les allogreffes spongieuses stérilisées.

D'après Seehermann (Seehermann et coll, 2005), la délivrance de la moitié de la dose absorbée se fait en 1,87 jour avec un caillot sanguin, 5,65 jours avec une éponge de collagène et 12,75 jours avec une matrice de phosphate de calcium.

3.1.2.2.3.3 Résultats des études chez l'animal

De très nombreuses études ont été réalisées avec des protocoles différents et des doses différentes, chez des animaux différents (lapin, mouton, rat, cochon, singe…) avec différents supports.

Les protéines les plus utilisées sont la BMP-2, la BMP-7 et la BMP-4.

Certains résultats ont été spectaculaires : on a réussi à obtenir un large comblement des substances diaphysaires en trois mois, récupérer des qualités mécaniques après une résection maxillaire, une fusion vertébrale rapide…

On peut néanmoins ressortir de ces études des données communes :

- Les résultats sont doses dépendants. Une dose trop faible ou trop forte ne donnera pas l'effet recherché.
- Le type de support et le temps de relargage ont une forte influence.
- Le taux de succès pour un comblement se rapproche de celui des autogreffes spongieuses, même parfois le dépasse.
- L'adjonction de protéines inductrices permet de compenser les effets de l'injection de produits inhibiteurs de la consolidation tels que les anti-inflammatoires ou la nicotine.
- Il n'a été observé aucun effet cancérigène des BMP.
- Il n'y a pas d'effets secondaires suite à l'injection dans le système systémique des fortes doses de BMP ; les protéines sont rapidement détruites par le foie.

3.1.2.2.3.4 Études cliniques

Les résultats chez l'animal et l'absence de risque ont conduit à transposer ces études chez l'homme.

Quatre études intéressantes ressortent de toutes les études faites chez l'homme:

- rhBMP-2 et fractures ouvertes de jambe (Govender et coll, 2002)

  But :

  Evaluer l'effet de rhBMP-2 (Inductos) sur le délai de consolidation et le nombre de réinterventions nécessaire.

  Méthodes :

  On a pris 450 patients avec des fractures diaphysaires tibiales ouvertes.

  Trois groupes ont été formés : un groupe contrôle recevant un traitement standard et deux autres groupes recevant une solution de rhBMP-2 supportée par une éponge de collagène à une concentration de 0,75 mg/ml ou 1,5 mg/ml.

  Une analyse a été faite durant 12 mois.

  Résultats :

  - À toutes les visites de 10 à 52 semaines la proportion de patients considérés comme consolidés était significativement plus grande dans le groupe traité avec rhBMP-2 à1,5 mg/ml.
  - À 6 mois 58% du groupe rhBMP-2 (1,5mg/ml) était consolidé contre 38% pour le groupe contrôle. Comparé au groupe contrôle le traitement par rhBMP-2 a diminué de manière significative le taux de réintervention pour le retard de consolidation. On obtient de meilleurs résultats pour la concentration de 1,5mg/ml.
  - L'incidence des complications est significativement plus faible avec le traitement par rhBMP2.

  Conclusion :

  La rhBMP2 1,5mg/ml a été la plus efficace dans le traitement des fractures ouvertes de diaphyse tibiale avec une diminution du nombre de réinterventions, une augmentation de la consolidation de la fracture et une diminution de l'infection.

- BMP-7 et pseudoarthrose (Friedlander et coll, 2001)

  But :

  Evaluer l'effet de la BMP-7 comparativement à une greffe spongieuse autologue sur 122 patients.

  Méthode :

  Les patients recevaient soit un traitement standard (autogreffe) soit une implantation de rhBMP-7.

  Résultats :

  Le saignement post-opératoire était de 254 cc avec rhBMP-7 et de 345cc avec une autogreffe. À 9 mois 81% des patients étaient consolidés avec rhBMP-7 contre 85% avec une greffe autologue. Le taux de récidive infectieuse était supérieure pour la série témoin.

  Conclusion :

  Cette étude met en évidence que l'apport de BMP permet d'obtenir des résultats comparables à ceux obtenus avec une autogreffe spongieuse ainsi qu'une diminution du risque de récidive infectieuse.

- rhBMP-2 et nécrose (Chiron et coll, 2003)

  But :

  Comparer un lot témoin de malades adultes ayant une nécrose de stade 1 et 2 d'Arlat et Ficat traités par forage simple, avec un lot de malades bénéficiant d'un forage ainsi qu'un dépôt à faible dose de rhBMP-2 dont le support est un simple caillot sanguin autologue.

  Méthode :

  Sur 43 patient, 24 ont eu une injection de rhBMP-2 et 19 un forage simple.

  Résultats :

  Volume nécrose : diminution de 34% avec rhBMP-2, augmentation de 28% pour le groupe témoin.

  Volume du forage : diminution de 42,6% avec rhBMP-2, diminution de 49,5% avec le groupe contrôle.

  Progression du stade de la maladie : 46% sont restés au même stade avec rhBMP-2 contre 26% pour le groupe témoin.

  Complications : 7,4% avec rhBMP-2 contre 2,5% pour le groupe témoin.

Conclusion : L'adjonction de protéine ostéoinductrice présente un excellent rapport bénéfice/risque.

- rhBMP-2 et arthrodèse rachidienne (Burkus et coll, 2002)

  But :

  On a pris 179 dossiers de patients avec une pathologie lombaire dégénérative nécessitant une arthrodèse. Le but était de montrer que les résultats sont comparables entre une adjonction de rhBMP-2 (Infuse) et un comblement avec une autogreffe d'os spongieux.

  Méthode :

  On a testé 143 patients avec une éponge de collagène résorbable imprégnée de rhBMP-2 à 1,5mg/ml et on a pris un groupe témoin de 136 patients dont l'espace a été comblé avec de l'os spongieux.

  Résultats :

  Le temps opératoire et la perte sanguine est inférieure dans le groupe rhBMP-2.

  Le retour à domicile est plus précoce chez le groupe rh.

  Les douleurs résiduelles sont identiques dans les deux groupes.

  Conclusions :

  Le système rhBMP-2 avec une éponge de collagène a été approuvé par la FDA en 2002 dans les indications d'arthrodèse.

3.1.2.2.3.5 Discussion

Les résultats cliniques sont prometteurs. On peut cependant constater quelques discordances entre les résultats des études expérimentales chez l'animal et celles menées chez l'homme. En effet pratiquement l'ensemble des études animales montre une apparition rapide de formation osseuse solide. Ceci s'explique par le fait que chez l'animal le biais est dû aux os des petits animaux qui se consolident vite. Chez l'homme la raison de la moindre efficacité tient dans le fait de l'utilisation d'un mauvais support et l'utilisation d'une seule protéine pure alors qu'il faudrait un mélange de protéines.

3.1.2.2.3.6 Risques et effets indésirables

L'analyse des études réalisées chez l'Homme et chez l'animal montre que l'adjonction de protéine inductrice n'entraine qu'un taux très faible d'effets indésirables. Cependant les effets mineurs observés à une fréquence faible sont les suivants : maux de tête, carence en magnésium,

tachycardie, phénomène inflammatoire cutanés local. Il a été observé un épaississement de l'os chez le fœtus animal, mais les effets tératogènes chez l'Homme sont non connus (Realy et coll, 2001). Dans le doute il faut éviter le dépôt de protéines inductrice chez la femme enceinte (Mac Kay et coll, 2001). Il n'a pas été constaté de signes de transformation maligne.

3.1.2.2.3.7 Contre-indications

La grossesse et les antécédents de tumeurs.

3.1.2.2.4 Etudes odontologiques

- rhBMP-2 :

  En 1995 Sigurdsson évalue la régénération de l'os et du cément après reconstruction chirurgicale avec rhBMP-2 chez 6 chiens.

  Des lésions infra-osseuses (hauteur de 5 mm) ont été créées puis traitées soit avec rhBMP-2 soit avec un véhicule de contrôle. Une analyse est réalisée à 8 semaines.

	rhBMP2	Contrôle
Hauteur de régénération osseuse alvéolaire	3,5mm	0,8mm
Augmentation de la surface osseuse	8,4mm	0,4mm
Régénération du cément	1,6mm	0,4mm

Tableau 2: Résultats à 8 semaines de l'étude de Sigurdsson sur rhBMP-2

  En 2000, Cochran suit 12 patients pendant 3 ans ayant reçu rhBMP-2 et pose d'implant (Cochran et coll, 2000). Il en résulte une stabilité de tous les implants, avec une formation osseuse dans la zone traitée avec rhBMP-2.

  En 2003 Jung teste si l'ajout de rhBMP-2 à du BioOss permet d'améliorer la régénération osseuse. 34 implants sont posés sur des sites nécessitant une augmentation de crête latérale. Après 6 mois les défauts résiduels sont mesurés :

	rhBMP2	BioOss seul
Remplissage	96,00%	91,00%
Densité osseuse	37,00%	30,00%
Os mature	76,00%	56,00%

Tableau 3: Résultats à 6 mois de l'étude de Jung sur rhBMP-2

  Ces résultats nous montrent que la combinaison à rhBMP-2 permet d'améliorer le processus de maturation de la régénération osseuse.

En 2005 Fiorellini évalue l'efficacité de rhBMP-2/collagène par rapport à du collagène seul. Il en ressort une augmentation sensiblement plus grande d'os alvéolaire pour les patients traités avec rhBMP-2, ainsi qu'une adéquation de l'os plus grande pour la pose d'un implant (Fiorellini et coll, 2005).

En 2005 Boyne compare la pose d'implants après augmentation sinusienne chez des patients ayant reçu soit une autogreffe soit rhBMP-2/collagène 0,75 ou 1,50 mg/ml (Boyne et coll, 2005).

	Autogreffe	0,75mg/ml rhBMP2	1,50 mg/ml rhBMP2
Augmentation crête alvéolaire	11,3 mm	9,5 mm	10,2 mm
Largeur de crête	4,7 mm	2,0 mm	2,0 mm
Densité osseuse à 4 mois	350 mg/cc	84 mg/cc	134 mg/cc
Implants encore fonctionnels à 36 mois	62,00%	67,00%	76,00%

Tableau 4: Résultats de l'étude de Boyne sur rhBMP-2

Ces résultats nous montrent une croissance osseuse avec rhBMP-2 sans risque pour le placement et le chargement fonctionnel d'implants chez le patient nécessitant une augmentation sinusienne.

En 2010 Gutwald compare l'autogreffe au traitement avec rhBMP-2/collagène pour l'augmentation de sinus chez l'animal puis la pose d'implant. À 12 semaines il en résulte que le contact os-implant et la densité osseuse sont significativement plus élevés avec rhBMP-2 que l'autogreffe (Gutwald et coll, 2010).

- rhBMP-7 :

Différentes études ont été menées notamment sur l'emploi de rhBMP-7 pour l'élévation de sinus.

En 1998 Margolin compare rhBMP-7/collagène (COL) à COL seul chez le chimpanzé. L'augmentation de sinus avec rhBMP-7 induit une formation osseuse plus rapide et évidente (Margolin et coll, 1998).

Une étude similaire de Mac Allister démontre les mêmes résultats.

En 1999 Terheyden et coll réalisent un étude sur le mélange rhBMP-7 /BioOss lors de l'augmentation de sinus et le placement simultané d'implants sur 5 porcs. Le groupe contrôle représente le traitement par du BioOss seul. Après 6 mois les deux groupes présentent un nouvel os mais le contact os-implant est de 80 % pour rhBMP-7 alors qu'il

n’est que de 38,6 % pour le groupe contrôle. L’ostéointégration est également meilleure pour le groupe rhBMP-7. Ce qui nous montre que le traitement par rhBMP-7 est une alternative à la greffe autogène (Terheyden et coll, 1999).

En 2000 Van den Bergh et coll comparent la greffe autogène à 2,5 mg de rhBMP-7 associé à du COL sur 3 patients pour l’augmentation de sinus : un patient montre un os mature, aucun os n’a été retrouvé chez le 2ème et le 3ème présente une augmentation de sinus ainsi qu’une intégration des implants avec succès (Van den Bergh et coll, 2000).

En 1998 Giannobile et coll réalisent une étude préclinique sur les chiens sur le traitement de défauts de furcation de classe III par rhBMP-7, qu’ils comparent à la chirurgie seule ou la mise en place de COL seul. Après 8 semaines on peut constater une stimulation marquée de l’ostéogénèse, de la régénération du cément et de la formation d’une nouvelle attache pour le groupe rhBMP-7, ce qui n’est pas le cas pour les groupes témoins (Giannobile et coll, 1998).

3.1.2.2.5 Infuse Bone Graft®/Inductos® (rhBMP2)

Illustration 2: Coffret Infuse Bone Graft®

- Historique :

  En 2002 la FDA approuve l’utilisation de Infuse pour les fusions de colonne.

  En 2004 il obtient l’approbation de gain pour la guérison des fractures ouvertes du tibia.

  En 2007 la FDA approuve l’utilisation de Infuse dans les augmentations de sinus et l’augmentation localisée des crêtes alvéolaires pour les défauts liés aux alvéoles d’extraction.

Malheureusement, ce produit n'est pas encore autorisé en France dans le domaine dentaire. Au niveau Européen celui-ci est appelé Inductos et son utilisation est autorisée dans les cas ci-dessous :

- Indications de Inductos : (intitulé de l'AMM)
    - Alternative à l'autogreffe osseuse pour l'arthrodèse lombaire antérieure sur un niveau chez l'adulte présentant une discopathie dégénérative et ayant subi un traitement non chirurgical pour cette pathologie.
    - Traitement des fractures ouvertes du tibia chez l'adulte en tant que complément au traitement standard comprenant la réduction et la fixation par un enclavage centromédullaire.
- Présentation :

  Inductos se compose de rhBMP-2 ou dibotermine alpha.

  Il est utilisé avec un support qui est une matrice de collagène appelée ZCS (Adsorbable Sponge Carrier) ou éponge de collagène biorésorbable, qui se compose de collagène bovin de type 1.

  L'éponge est destinée à recevoir la rhBMP-2 (liquide) et la garder sur le site désiré.

  Le principe actif, la dibotermine alpha (D.alpha) est produite par des cellules recombinantes d'ovaires de hamster chinois.

  Un kit de BMP-2 comporte :
    - Un flacon de 12 mg de rhBMP-2 et un autre pour son solvant soit, après reconstitution, une solution finale de 1,5mg/ml de rhBMP-2.
    - Une matrice de collagène de type 1 destiné à recevoir toute la solution préparée.

Inductos est produit par la société Wyeth Pharmaceuticals et distribué par Medtronic Sofamor Danek, son prix unitaire pour un kit est de 2900 euros.

- Contre-indications du produit :
    - Immaturité du squelette
    - Tumeur évolutive ou patient traité pour une tumeur maligne (la nature du rôle joué par les BMP dans le développement de tumeur n'est actuellement pas connu. Il varie considérablement en fonction du type de BMP, de la lignée cellulaire et de l'environnement. Actuellement il parait raisonnable de ne pas utiliser les BMP après résection tumorale. Les BMP exogènes pourraient stimuler la croissance des cellules tumorales restantes sur une exérèse incomplète).

- Infection active du site
- Syndrome de loge
- Fracture pathologique (par exemple la maladie de Paget)
- Os métastatique
- Hypersensibilité à l'un des produits
- Grossesse

- Modalités de préparation et administration :

  Dans un champ stérile :

  - En utilisant une technique aseptique, placer une seringue, une aiguille et l'emballage interne de la matrice sur le champ stérile.
  - Désinfecter les bouchons de flacons de D-alpha et de solvant.
  - En utilisant la seconde seringue et la seconde aiguille du kit, reconstituer le flacon de D-alpha avec 8,4 ml de solvant. Injecter doucement le solvant dans le flacon contenant la D-alpha lyophilisée. Renverser doucement le flacon afin d'aider à la reconstitution. Ne pas agiter. Jeter la seringue et l'aiguille après usage.
  - Désinfecter le bouchon du flacon reconstitué de D-alpha.

  Dans un champ stérile :

  - Ouvrir l'emballage interne de la matrice et laisser la matrice dans son plateau.
  - A l'aide de la seringue et de l'aiguille mises en champ stérile à l'étape 1, prélever de façon aseptique 8 ml de la solution reconstituée de D-alpha du flacon situé dans le champ non stérile en tenant le flacon à l'envers pour faciliter le prélèvement.
  - En laissant la matrice dans son plateau, répartir uniformément la solution de D-alpha sur la matrice.
  - Attendre au moins 15 minutes avant d'utliser le médicament reconstitué. Le produit doit être utilisé dans un délai de 2 heures après préparation.

  Conservation : entre 15 et 30°C, dans son emballage d'origine.

- Publications de référence :

  L'AMM de ce produit est associée à des publications de référence dont la principale est l'étude de Govender (Govender et coll, 2002). Celle-ci est prospective, randomisée et multicentrique (49 centres, 11 pays).

Sur 421 patients présentant une fracture ouverte du tibia, trois groupes ont été formés en fonction du traitement administré :

G1 : enclavage centro-médullaire et parage des sutures selon les conditions cutanées

G2 : idem+implantation de 0,75mg/ml de rhBMP-2

G3 : idem+implantation de 1,5mg/ml de rhBMP-2

L'évaluation est basée sur la nécessité ou non d'une deuxième intervention à un an.

Pour le G3 on retrouve :

- Un plus faible taux de réintervention
- Un délai de consolidation significativement plus court
- Des taux d'infection plus bas
- Un taux de faillite de l'ostéosynthèse plus bas
- Une cicatrisation des plaies de la jambe accélérée à 6 semaines.

On peut également retenir une étude intéressante publiée dans le Journal of Oral and Maxillofacial Surgery en juillet 2008 (vol66) sur l'utilisation de rhBMP-2 dans la reconstitution des défauts osseux mandibulaires humains. En sachant également que la première application humaine de BMP sur la mandibule date de 2001 (Moghaden et coll, 2001)

- Patients et méthodes :

  5 patients qui avaient des défauts mandibulaires ont été reconstruits avec de la rhBMP-2 1,5mg/ml, avec une éponge de collagène seule ou en combinaison avec des cellules de moelle osseuse et des éclats d'os spongieux allogéniques.

  4 de ces patients avaient des défauts continus de la mandibule et le cinquième avait 2 grandes cavités osseuses après élimination de kystes dentigères.

  Pour évaluer la cicatrisation on a utilisé la radiographie et procédé à un examen clinique. La durée la plus longue de suivi de patient est de 22 mois après reconstruction.

- Résultats :

  La radiographie et la clinique révèlent une régénération osseuse et une restauration des défauts osseux pour 3 patients sur 5. La rhBMP-2 échouera pour 2 patients avec des défauts continus.

- Conclusion :

  Les défauts osseux mandibulaires peuvent être reconstitués avec succès par de la rhBMP-2 et une éponge de collagène.

3.1.2.2.6 Osigraft®/OP-1 (rhBMP7)

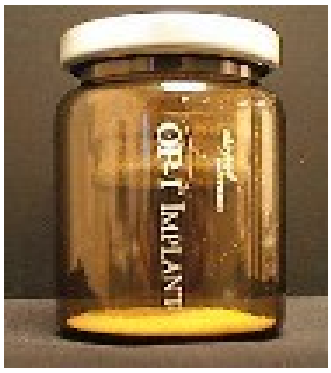

Illustration 3: Flacon d'Osigraft®

- Historique :

  Osigraft a eu l'autorisation de l'AMM en 2001, mais uniquement dans le domaine de la chirurgie orthopédique, pas encore en France dans le milieu dentaire.

- Indications : (intitulé de l'AMM)

  Traitement des fractures non consolidées (pseudoarthrose) du tibia d'au moins 9 mois, secondaire à un traumatisme, chez les adultes, dans les cas où un traitement antérieur par autogreffe à échoué ou quand l'utilisation d'une autogreffe est impossible.

- Présentation :

  Osigraft est composé de rhBMP-7 ou eptotermine alpha.

  Il est utilisé sur un support sous forme de poudre de collagène bovin de type1 biorésorbable.

  Avant d'implanter le produit, le chirurgien doit reconstitué une pâte ayant la consistance du sable mouillé.

  Le principe actif (eptotermine alpha) est produit par des cellules recombinantes d'ovaires de hamster chinois.

Un kit de rhBMP-7 est composé de :

- Un flacon de 1 gramme de poudre correspondant à la rhBMP-7 avec son support de collagène
- La poudre sera mélangée à 2 à 3 ml de solution stérile de chlorure de sodium à 9 mg/ml par injection.

Ce produit est distribué par Stryker.

- Contre-indications du produit :
  - Immaturité du squelette
  - Hypersensibilité à l'un des produits
  - Maladie auto-immune y compris la polyarthrite rhumatoïde, lupus, sclérodermie, syndrome de Sjögren, dermatomyosite
  - Infection active systémique
  - Sur des fractures verébrales
  - Fractures pathologiques de tumeurs, tumeurs à proximité du site
  - Chimiothérapie, radiothérapie, traitement immunosuppresseur
  - Grossesse
- Publication de référence :

  L'AMM de Osigraft est notamment associée à la publication de référence de l'étude de Friedlander(Friedlander et coll, 2001).

  Cette étude compare à deux ans les résultats cliniques et radiographiques de deux groupes de patients présentant une pseudoarthrose du tibia et traités par OP-1 (=Osigraft)(1 mg/ml) (64 patients) ou par autogreffe (61 patients).

  Il s'agit d'une étude prospective, randomnisée et multicentrique (17 centres).

  Elle conclut que OP-1 permet d'obtenir, dans les mêmes proportions et dans les mêmes délais qu'une autogreffe, la consolidation d'une pseudoarthrose du tibia.

  On obtient en effet 75 % de consolidation pour BMP7 et 84% pour le groupe contrôle.

  En revanche 21% des patients soignés par autogreffe ont développé une infection sur le site opératoire, contre 3% des patients soignés avec OP-1.

  Les résultats cliniques au dernier recul sont comparables entre les groupes.

3.1.2.3 rhPDGF-BB

Seuls deux médiateurs biologiques ont obtenus l'autorisation de la FDA pour leur utilisation dans la cavité buccale : rhBMP-2 (Infuse) vu précédemment, et rhPDGF-BB (GEM21S) .

3.1.2.3.1 Rôle et définition du PDGF

Le PDGF est formé de deux chaînes peptidiques A et B, associées par des ponts disulfures sous forme de dimères AA, AB et BB. La forme BB du PDGF humain est produite par génie génétique, ce qui donne le rhPDGF-BB.

Le PDGF est un facteur de croissance cellulaire stocké dans les plaquettes et libéré par exocytose localement lors de la coagulation lorsque ces dernières sont stimulées.

Une fois que les plaquettes l'ont libéré, le PDGF se lie à des récepteurs de surface cellulaire pour favoriser une migration et une prolifération cellulaire rapide. Il stimule également la néo-vascularisation in situ au niveau du défaut.

La nature cicatrisante du PDGF-BB a la capacité de stimuler de multiples cascades de cicatrisation des plaies afin de promouvoir la régénération parodontale.

3.1.2.3.2 Etudes menées sur le PDGF-BB

Le rhPDGF a fait l'objet de nombreuses recherches pré-cliniques afin de tester son efficacité et sa sécurité d'emploi.

- 1ère étude pré-clinique :

  Elle a été menée par Lynch sur le traitement des défauts parodontaux expérimentaux chez les chiens beagle avec du rhPDGF-BB (Lynch et coll,1989,1991). Elle a montrée une activité cellulaire accrue avec une néoformation d'os, de cément et de ligament parodontal.

- Etudes cliniques :

  La première étude clinique prometteuse a été réalisée par Howell, et a utilisé le rhPDGF-BB en association avec du rhIGF-I(recombinant human insulin growth factor-I) pour traiter les défauts intra-osseux (Howell et coll, 1997).

  De récentes études cliniques ont utilisé le rhPDGF-BB en association soit avec une allogreffe soit avec du β-phosphate tricalcique (β-TCP). Cette association s'est montrée très efficace (Nevins et coll, 2003a, 2005 et 2007 ; Camelo et coll, 2003 ; McGuire et coll, 2006 ; Ridgway et coll, 2008).

Le rhPDGF-BB associé à du β-TCP est actuellement disponible à la vente (uniquement aux Etats-Unis) à une concentration de 0,3mg/ml sous forme de gel. Il s'agit du GEM21S® (GEM21S®, Osteohealth Compagny, Etats-Unis).

Le β-TCP est un support passif qui possède des caractéristiques physiques et chimiques idéales pour aider à la fixation cellulaire et la croissance.

- Etudes histologiques humaines :

Les études de Nevins et Camelo (Nevins et coll, 2003a) (Camelo et coll, 2003) portent sur les défauts infra-osseux humain ainsi que sur les furcations de classe III, démontrant qu'une régénération fiable était obtenue avec du rhPDGF-BB.

- Expérience :

  Des défauts situés sur des dents postérieures ont été traité par allogreffe d'os déminéralisé et lyophilisé (DFDBA) préalablement hydrolysé par du rhPDGF-BB. Les dents ont ensuite été extraites en vue d'analyses histologiques.

- Résultats cliniques :

  On constate une nette amélioration des profondeurs de sondage horizontal et vertical, ainsi qu'un gain d'attache pour tous les sites traités au rhPDGF-BB.

- Analyse histologique :

  On constate une solide régénération parodontale dans les sites traités par du rhPDGF avec des quantités significatives d'os, de cément, de ligament parodontal néoformés, et une amélioration du niveau d'attache pour les défauts infra-osseux.

- Etude clinique randomisée :

Une fois que la preuve des études principales a été établie, il a fallu mener une étude clinique aléatoire pour établir la prévisibilité de cette modalité thérapeutique.

Il s'agit de l'étude de Nevins (Nevins et coll, 2005) qui est une large étude de cas-témoin, multicentrique, randomnisée, menée chez l'Homme en aveugle afin d'évaluer l'efficacité et la sécurité de rhPDGF-BB en association avec du β-TCP pour le traitement des défauts infra-osseux parodontaux.

- But :

  Trois groupes ont été évalué dans le traitement de défauts osseux verticaux inter-proximaux de 4 mm de profondeur ou plus :

G1 : β-TCP + 0,3 mg/ml rhPDGF-BB

G2 : β-TCP + 1,0 mg/ml rhPDGF-BB

G3 : β-TCP + solution tampon seule

Une évaluation périodique clinique et radiologique a été faite sur une période minimale de 6 mois.

- Résultats :

  -Excellente cicatrisation pour tous les défauts traités par rhPDGF-BB et gain d'attache clinique significativement plus élevé et plus précoce à 3 mois pour G1 (3,8±0,2 mm) par rapport à G3 (3,3±0,2mm).

  -Quantité significativement moins importante de récession gingivale à 3 mois pour G1 par rapport à G3.

  -Les radiographies confirment les résultats cliniques positifs obtenus avec un traitement à base de rhPDGF-BB.

  -Pourcentage de comblement osseux significativement plus élevé à 6 mois pour G1 (57±6%) par rapport à G2 (34±4%) et G3 (18±6%).

  -Croissance osseuse linéaire radiologiquement significativement plus élevée pour G1 (2,6±0,2mm) par rapport à G2 (1,5±0,2mm) et G3 (0,9±0,1mm).

- Conclusion :

  -Le rhPDGF-BB associé à β-TCP favorise le taux et l'induction de la régénération osseuse ainsi que le niveau d'attache clinique dans les défauts intra-osseux parodontaux.

  -Aucune différence significative n'a été observée sur les effets indésirables entre les différents groupes.

- Cas représentatifs :

  Des cas représentatifs ont été sélectionnés pour une revue clinique et radiologique (au moins 24 mois) pour démontrer le bien-fondé des résultats obtenus à partir de l'étude clinique vue précédemment (McGuire et coll, 2006).

  Elle porte sur 180 sujets, 11 centres, avec un taux d'assiduité et de suivi du protocole de 98,9%, et nous montre que les résultats obtenus durant la période initiale de 6 mois sont restés stables et constants durant au moins 24 mois après l'intervention chirurgicale.

  C'est la seule étude importante à ce jour, multicentrique, aléatoire et contrôlée en aveugle menée chez l'Homme.

- Autres supports pour rhPDGF-BB :

  La recherche d'autres supports se justifie par le fait que l'efficacité clinique de rhPDGF-BB dépend de la capacité du système de relargage utilisé à libérer une dose thérapeutique de rhPDGF-BB au moment stratégique.

  On peut citer l'exemple de 2 études :

  Celles de Jiang et Stefan (Jiang et coll, 1999) (Stefan et coll, 2000) sur l'utilisation de rhPDGF-BB associé à une greffe d'os bovin anorganique in vitro qui conclut à une croissance plus élevée de cellules ostéoblastiques par rapport au support seul.

  Celle de Simion (Simion et coll, 2006, 2009) sur l'utilisation d'une greffe d'os bovin déprotéiné saturé en rhPDGF-BB lors d'un traitement de crêtes mandibulaires atrophiques sur un modèle canin, et qui conclut à une stimulation significative d'os vertical.

  D'autres rapports ont été faits sur l'utilisation de diverses matrices telles que :

  - Eponge de chitosan
  - DFDBA(cortical)
  - DFBA(spongieux)
  - Allogreffe d'os frais congelé (FDBA)
  - FDA
  - B-TCP
  - Sulfate de calcium

  (Nevins et coll, 2003a, 2007 ; Papadopoulos et coll, 2009 ; Camelo et coll, 2003 ; Park et coll, 2000, Bateman et coll, 2005).

Deux études histologiques humaines associant soit du rhPDGF-BB avec du DFDBA dans le traitement des furcations de classe II et les défauts infra-osseux, soit du rhPDGF-BB avec du FDBA dans le traitement des défauts infra-osseux profonds ont montré que le défaut était comblé de façon significative tant sur le plan clinique que radiologique dans les 6 à 11 mois suivant l'intervention chirurgicale (Nevins et coll, 2003a, 2007 ; Camelo et coll, 2003).

3.1.2.3.3 GEM21S®

Ce produit a eu l'autorisation de la FDA en 2005.

Il a été développé en utilisant les principes d'ingénierie tissulaire qui combine une protéine bioactive (rhPDGF-BB) avec une matrice ostéoconductrice (β-TCP).

Il a été conçu pour stimuler la cicatrisation et la régénération osseuse lorsqu'elle est implantée dans le corps, et qui se poursuit après disparition de l'implant .

Le GEM21S® est le seul traitement dentaire contenant du PDGF.

- Indication :

  Ce produit est indiqué dans le traitement des défauts osseux y compris les défauts infra-osseux, les défauts de furcation, les récessions gingivales liées à des défauts parodontaux.

- Contre-indications :
  - Pas assez de tissu gingival pour recouvrir l'implant mis en place
  - Infections aigües non traitées
  - Tumeur maligne au niveau de site chirurgical
  - Hypersensibilité à l'un des composants

  Remarque : ne pas injecter ce produit par voie systémique.

- Composition :

  Un kit de GEM21S® est à usage unique et contient :
  - Du β-TCP synthétique, très poreux, résorbable, dont les particules mesurent de 0,25 à 1,0 mm.
  - Du rhPDGF-BB stérile qui est fourni dans une seringue qui a été remplie aseptiquement.

- Mode d'emploi :

  Après exposition du défaut avec un lambeau de pleine épaisseur mucopériosté, tous les tissus de granulation doivent être soigneusement nettoyés. Le débridement complet des tissus mous est essentiel à une bonne régénération.

  Surfaçage radiculaire.

Estimer la quantité nécessaire de GEM21S® pour remplir le défaut osseux. Éviter le remplissage excessif.

Préparation de GEM21S : saturer les particules de β-TCP avec la solution de rhPDGF-BB. Laisser le produit reposer 10 minutes .

GEM21S® est placé dans le défaut avec une pression modérée, en prenant soin de ne pas écraser les particules.

Pour améliorer la néo-formation osseuse, GEM21S® doit être placé en contact direct avec l'os bien vascularisé.

Contrôle de l'hémostase.

Sutures.

3.1.2.4 GDF-5

3.1.2.4.1 Introduction

GDF-5 (Growth and Differenciation Factor-5) est également appelé CDMP-1 (cartilage Derived Morphogenic Protein-1).

Il appartient à la famille des BMP.

Il a son récepteur cellulaire, BMPR de type Ib, en commun avec BMP-2 et 4 (Yoshimoto, Yamamoto, 2006).

Son implication dans la squelettogénèse est fortement suspectée, plusieurs études ont été menées.

Les capacités ostéoinductrices de GDF-5 ne sont pas encore bien mises en évidence à ce jour, mais il présente de bonnes perspectives. Cependant Buxton souligne que cette protéine a une activité qui doit être distinguée de celle des autres BMP. En effet elle agit principalement sur la chondrogénèse et ses voies d'actions cellulaires semblent distinctes de celles des BMP, qui sont elles ostéoinductrices (Buxton et coll, 2001).

GDF-5 intervient dans :

- L'ossification enchondrale
- La formation d'articulations, de tendons, de ligaments
- Dans l'odontogénèse

Les mutations de son gène ont été identifiées dans plusieurs pathologies liées à une chondrogénèse.

Des études in vitro ont montré que GDF-5 était capable d'induire la différenciation des cellules souches mésenchymateuses vers les lignées chondrogéniques et ostéogéniques.

D’après les diverses études, les propriétés de GDF-5 seraient les suivantes :

- Il stimule l’agrégation des cellules souches mésenchymateuses avec un effet dose-dépendant (Hatakyama et coll, 2004).
- RhGDF-5 stimule la prolifération des ostéoblastes, des cellules periostées et des fibroblastes in vitro (Yoshimoto, Yamamoto et coll, 2006).
- La consolidation en zone de perte de substance osseuse du tibia de babouin est accélérée par introduction de rhGDF-5 sur un support de collagène avec un effet dose-dépendant (Spiro et coll, 2000).

En 2006, Yoshimoto évoque les capacités d’ostéoinduction de 20 µg de rhGDF-5 avec un support de collagène par voie de l’ossification enchondrale.

3.1.2.4.2 Induction de la formation osseuse au niveau du crâne avec rhGDF-5 chez la souris , (Yoshimoto et coll, 2006)

- Objectif :

  L’objectif de cette étude est de montrer que GDF-5 présente une structure proche des BMP et joue un rôle crucial dans la morphogénèse du squelette, et que rhGDF-5 est un facteur approprié pour améliorer la cicatrisation des défauts osseux et l’induction de la formation osseuse ectopique.

  Pour cela on a étudié le mécanisme de formation osseuse induite par rhGDF-5 chez le crâne de souris par des méthodes radiologiques, histologiques et immunohistochimiques. La prolifération cellulaire a également été examinée in vitro.

- Matériel et méthodes :

  On a isolé enzymatiquement chez la souris néonatale des ostéoblastes primaires de crâne, des cellules du périoste et des fibroblastes du tissu conjonctif.

  La prolifération cellulaire a été estimée en présence ou en absence de rhGDF-5 par test de réduction de tétrazolium.

  Pour examiner le mécanisme d’ostéoinduction, rhGDF-5/atécollagene (AC) composite ou 0,001N HCl/AC composite ont été injectés par voie sous cutanée dans le crâne de la souris .

  Le tissu a été examiné radiologiquement, histologiquement et immunohistochimiquement.

- Résultats :

  En présence de rh GDF-5 on a une augmentation significative dans la culture de la prolifération des ostéoblastes primaires, des cellules du périoste et des fibroblastes.

  Les observations immunohistochimiques montrent une immunoréactivité pour l'antigène nucléaire des cellules proliférantes (PCNA) pour des cellules sur le site où rhGDF-5/AC a été injecté.

- Conclusion :

  L'exposition à GDF-5 favorise la prolifération et la différenciation des cellules crâniennes, qui donnent lieu à la formation d'os ectopique.

3.1.2.4.3 L'activité inductive de rhGDF-5, (Spiro et coll, 2000)

- Matériel et méthodes :

  Des essais in vivo ont été réalisés sur plusieurs espèces.

  -Chez le rat : rhGDF-5 mélangé à de la matrice minéralisée a été implanté en sous-cutané dans la région thoracique, et en intra-musculaire dans le muscle tibial postérieur.

  A 14 et 21 jours les implants sont récoltés, pesés, traités par histologie de routine et analysés pour l'activité phosphatase alcaline.

  -Chez les os longs du primate : on a implanté sur des défauts osseux une matrice minéralisée avec ou sans rhGDF-5 à différentes concentrations (10, 100 et 1000µg/cm³).

  Une analyse radiographique a été faite immédiatement après la chirurgie puis toutes les 4 semaines.

  Les implants ont été récupérés à 21 semaines pour une analyse histologique.

  -La fusion de moelle chez le primate : une fusion lombaire a été réalisée avec de la matrice minéralisée de collagène avec ou sans rhGDF-5 (500 et 1500µg/cm³) ou avec une autogreffe.

  A 20 semaines un prélèvement a été réalisé, ainsi que des examens radiologiques et histologiques.

- Résultats :

  Chez le rat :

  Il y a eu formation ectopique de foyers cartilagineux dans la matrice avec du rh GDF-5, ainsi qu'une augmentation de l'activité phosphatase alcaline, dose-

dépendante, et en général une formation d'os ectopique avec rh inférieure à celle obtenue avec les BMP.

Chez les os longs du primate :

Les signes de guérison étaient proportionnels à la dose de rhGDF-5 ; la réponse de guérison était plus élevée avec une dose plus importante de rh ; histologiquement, une union de 100% s'est faite avec une forte dose, 75% avec une dose moyenne, 50% à faible dose, et seulement 25% pour les sites non traités avec rhGDF-5.

Fusion rachidienne chez le primate : l'implantation de matrice de collagène avec 500µg/cm³ de rhGDF-5 induit la plus haute fréquence de fusion et une formation osseuse plus robuste.

3.1.2.4.4 Analyse de l'ostéochondro-induction de GDF-5 dans le muscle de rat, (Kakudo, Wang, 2007)

On a implanté du GDF-5 dans le muscle de la jambe de rat pour évaluer in vivo l'induction ostéochondrale par examen radiologique et histologique.

Un mélange de GDF-5 (0, 100, 300 et 500µg) avec du collagène I a été implanté.

A 3 semaines le site d'implantation a été examiné par rayon X et examen histologique.

Les résultats nous montrent que :

- Les groupe 0 et 100µg n'ont pas présenté d'induction ostéochondrale
- Le groupe 300µg présente des agrégats de cartilages et de tissu osseux
- Le groupe 500µg présente de l'os mais pas de cartilage

Cette étude est le premier rapport de l'effet dose-dépendant de GDF-5 sur l'ostéogénèse et l'ostéoinduction.

3.1.2.4.5 Augmentation de la crête alvéolaire avec du rhGDF-5, (Polimeni et coll, 2010)

L'étude porte sur l'application de rhGDF-5 autour d'implants posés au niveau de défauts verticaux supra-alvéolaires de 5 mm chez 12 chiens.

On évalue l'ostéointégration et l'augmentation de la crête alvéolaire.

6 chiens recoivent 30 ou 60 µg de rhGDF-5, 6 autres 120 µg de rhGDF-5.

- Résultats :

  On obtient une légère augmentation de la hauteur osseuse induite par les implants ayant reçus rhGDF-5 par rapport au témoins :

- Groupe 120µg : 1,6±0,6 mm
- Groupe 60µg : 1,2±0,5 mm
- Groupe 30µg : 0,6±0,2 mm
- Tous les groupes présentaient une ostéointégration.

- Conclusion :

On constate un effet ostéoinducteur dose-dépendant de rhGDF-5 ; l'application de rhGDF-5 semble sans risque.

3.1.2.5 Les statines

3.1.2.5.1 Introduction, rôle

Les statines, ou inhibiteurs de la HMG-Coa réductase, font parties de la classe des hypolipidémiants, utilisés comme médicaments pour diminuer la cholestérolémie.

Il existe différentes statines : atorvastatine, fluvastatine, lovastatine, prevastatine, rosuvastatine et simvastatine.

Au niveau de l'organisme, l'acide mévalonique (enzyme du foie nécessaire à la fabrication du cholestérol) est le principal inhibiteur du métabolisme osseux : les statines vont libérer le métabolisme osseux en inhibant la production d'acide mévalonique.

L'effet est associé à une expression accrue de BMP-2.

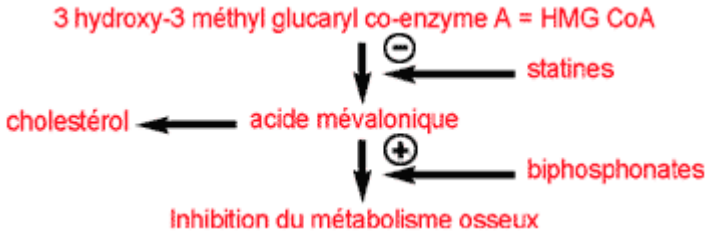

Illustration 4: Mode d'action des statines

3.1.2.5.2 Etudes sur l'effet ostéoinducteur

Quelques études ont été menées sur l'implication des statines dans la différenciation des ostéoblastes, mais leur capacité strictement ostéoinductrice n'est pas prouvée à ce jour.

Dans les études in vitro, les cellules osseuses de la souris et de l'Homme expriment davantage le promoteur du gène codant pour BMP-2 en présence de statines (Mundy et coll, 1999).

Dans les études in vivo, la lovastatine et la simvastatine augmentent la densité cellulaire et le volume de tissu osseux après application en sous-cutané chez l'os du crâne de la souris (Mundy et coll, 1999).

Des statines administrées par voie orale chez la femelle rat ovariectomisée semblent capables d'augmenter le volume trabéculaire osseux de 39 à 94% selon les animaux (Mundy et coll, 1999).

Des études cliniques suggèrent que les statines administrées par voie orale augmentent la densité minérale osseuse mesurée à la hanche (Bauer et coll, 1999).

Les premières conclusions de ces études parues depuis les années 2000 nous montrent qu'un nouveau type de « facteur de croissance » est né, dont la puissance équivaudrait à celle des facteurs humains, et permettrait en plus l'expression de BMP2.

Le seul frein pour l'instant à l'utilisation des statines est leur posologie efficace, qui est 10 à 50 fois celle habituelle chez l'Homme. Les laboratoires sont à la recherche de molécules actives à une posologie normale.

3.1.2.5.3 Etude « Stimulation de la formation osseuse par les statines », Mundy, 1999

Les statines sont un médicament largement utilisé pour diminuer le cholestérol. Elles favorisent également la formation d'un nouvel os in vitro chez les rongeurs. L'effet est associé à une expression accrue du gène codant pour BMP-2 dans les cellules osseuses.

Pour tester les effets des statines sur l'expression du gène BMP-2, on a utilisé le gène de la luciférase qu'on a transféré chez le promoteur de BMP-2 de la souris.

Le gène a été transfecté dans une lignée cellulaire d'ostéoblastes de souris et les effets sur le promotteur ont été évalué par l'activité de la luciférase dans les lysats cellulaires.

Il s'avère que la lovastatine est le seul produit naturel qui a augmenté spécifiquement l'activité luciférase dans les cellules.

Les effets de la simvastatine, de la mévastatine et de la fluvastatine ont également été examinés, et montrent qu'elles ont été efficaces au maximum à 5µM et aucun effet n'a été détecté à des concentrations inférieures à 1µM.

L'activité de la luciférase a été bloquée par le métabolite situé en aval de HMG-Co-A réductase, méalonate, ce qui suggère que les effets de la formation osseuse étaient causalement liés à l'inhibition de cette enzyme.

Les cellules osseuses de souris ou d'Homme cultivées, exposées aux statines montrent une expression renforcée de l'ARNm de BMP2.

Cet effet semble spécifique parce que les statines ne modifient pas l'expression du promoteur de BMP4, évaluée par analyse Northern Blot.

Pour évaluer les effets biologiques des statines sur l'os, on leur a ajouté de l'os crânien de souris néonatales en culture.

Les crânes des petits de 4 jours ont été explantés, on a disséqué le tissu conjonctif et placé dans un milieu de culture avec 0,1% d'albumine sérique bovine, et incubé avec des statines pendant 3 à 7 jours.

La formation d'os nouveau a ensuite été évaluée morphologiquement.

Les résultats montrent que la lovastatine, la simvastatine, la fluvastatine et la mévastatine augmentent la formation osseuse d'environ 2 à 3 fois, soit une augmentation comparable après traitement avec BMP-2 et FGF-1. Il y a également une augmentation du nombre d'ostéoblastes à tous les stades de différenciation.

On a ensuite injecté de la lovastatine et de la simvastatine dans le tissu sous cutané recouvrant le crane de souris in vivo. Des injections ont été faites 3 fois/jours pendant 5 jours.

Les souris ont été tuées au bout de 21 jours, et le crane prélevé pour des analyse histomorphométriques.

Les résultats montrent une augmentation de près de 50% de formation d'os nouveau après seulement 5 jours.

Pour déterminer si les statines stimulent la formation d'os nouveau quand elles sont administrées de façon systémique on teste leur effet sur le volume d'os trabéculaire chez la femelle rat après administration orale.

Les souris sont tuées à 14 jours. On mesure le volume osseux, le volume ostéoïde, la surface des ostéoblastes et ostéoclastes et le nombre d'ostéoclastes.

Les résultats montrent que les statines augmentent le volume d'os trabéculaire de 39 à 94% après traitement, avec une diminution concomitante du nombre d'ostéoclastes.

Ces résultats suggèrent que les statines méritent une enquête plus approfondie sur leur potentiel anabolisant pour l'os.

Facteurs de croissance (production par génie génétique)	rhBMP	rhPDGF-BB	rhGDF5
	-Propriétés ostéoinductrices -Différents supports ostéoconducteurs (éponges de COL+++) -pas d'effets cancérigènes -rhBMP2 : • amélioration de la régénération osseuse • meilleurs résulats pour l'intégration des implants après augmentation sinusienne (par rapport à l'allogreffe) • Infuse Bone Graft® : approuvé par la FDA dans l'utilisation pour l'augmentation sinusienne et le traitement des défauts parodontaux. -rhBMP7 : • formation osseuse après augmentation sinusienne plus rapide, intégration des implants • amélioration de la régénération osseuse dans les défauts de furcation de classe III • Osigraft® : pas encore autorisé par la FDA en application odontologique, que chirurgie orthopédique.	-Stimule la réplications des cellules endothéliales, effet chimiotactique sur les cellules du ligament parodontal, promotion de la synthèse collagénique, potentialise les autres facteurs de croissance -Solide régénération parodontale, amélioration du niveau d'attache, comblement osseux plus élevé -GEM21S® : • autorisation par la FDA dans le traitement des défauts infra-osseux, de furcations et les récessions gingivales • rhPDGF-BB+β-TCP	-Appartient à la famille des BMP -Stimule la prolifération des ostéoblastes et fibroblastes -Capacités ostéoinductrices -Application rhGDF-5 semble sans risque.
Statines	-Appartiennent à la famille des hypolipidémiants -Augmentent le volume de tissu osseux, la densité minérale osseuse -Implication dans la différenciation des ostéoblastes, mais capacité ostéoinductrice pas encore prouvée -Frein à utilisation : posologie efficace 10 à 50 fois celle habituelle chez l'Homme.		

Tableau 5: Récapitulatif de l''application d'un seul facteur"

3.1.3 Application de plusieurs facteurs

L'application de facteurs biologiques en tant que facteurs uniques est une technique qui a obtenu un grand succès, mais elle a des limites.

On utilise le plus souvent le facteur unique en une seule application au cours du traitement. Le problème est que les facteurs vont montrer une forte concentration dans les tissus initialement puis diminuer en fonction du facteur utilisé, son environnement et son transporteur. Or il est nécessaire que le facteur soit présent à toutes les étapes de la cicatrisation.

Pour surmonter ce problème de cinétique de relargage on peut appliquer le facteur de manière répétée par des injections en série durant le traitement.

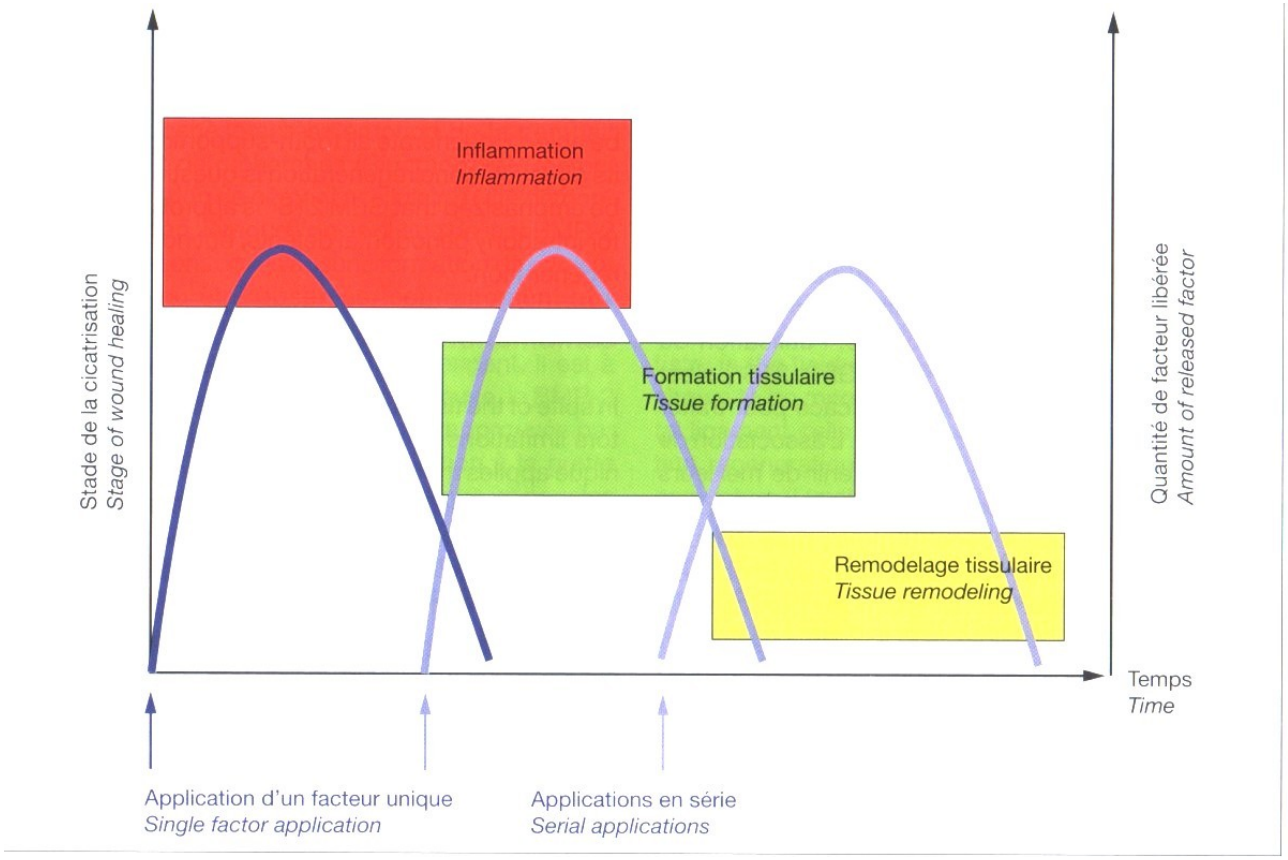

Illustration 5: Injections en séries d'un médiateur biologique (d'après Polimeni et coll, 2006).

Mais même des applications en série ne constituent pas une approche thérapeutique idéale étant donné que l'environnement (cellules, récepteurs) change durant le processus de cicatrisation.

La BMP et le PDGF ont des cellules cibles spécifiques ; ils n'agissent pas sur toutes les structures de la dent en tant que facteurs uniques.

C'est pour cela qu'une application de médiateurs biologiques en association offre plusieurs avantages potentiels :

- Plusieurs cellules cibles, et donc tissus cibles
- Facteurs pour toutes les étapes de la cicatrisation
- Applications en série non nécessaire
- Chronologie de libération pouvant permettre une stimulation plus efficace de la cicatrisation.

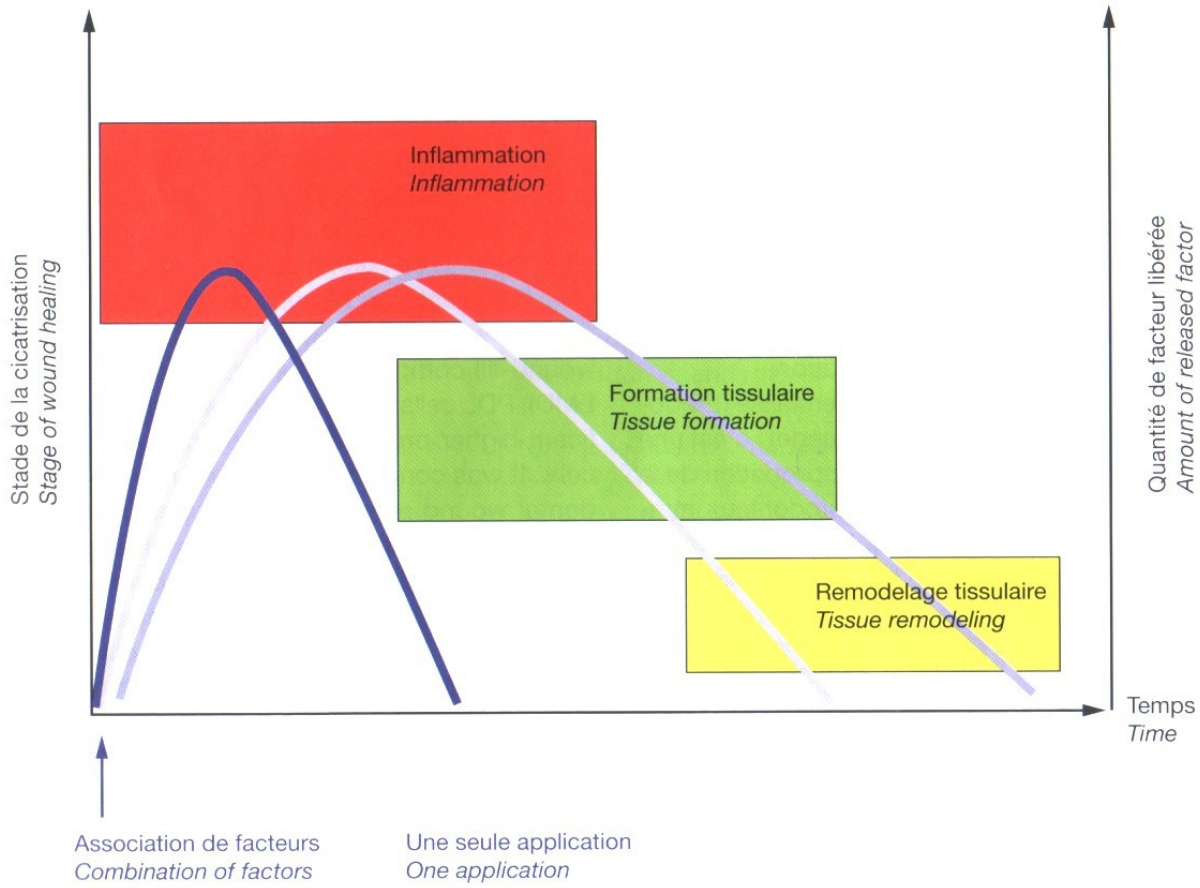

Illustration 6: Application d'une association de médiateurs biologiques (d'après Polimeni et coll, 2006).

L'association de plusieurs facteurs peut être retrouvée dans l'utilisation de concentrés plaquettaires, des dérivés de la matrice amélaire ou encore de P-15.

3.1.3.1 Les concentrés plaquettaires : PRP(Platelet-Rich Plasma) et PRF(Platelet-Rich Fibrin)

3.1.3.1.1 Historique

Dans les années 1970 se sont développées, notamment avec les travaux de Madras, les colles de fibrines. Celles-ci correspondent à un mécanisme biologique naturel amplifié de manière artificielle, la polymérisation de la fibrine au cours de l'hémostase. Ces colles représentent un risque de contamination virale du fait qu'elles sont des produits dérivés du sang issues de l'industrie pharmaceutique. C'est pour cela que des protocoles de mise au point de colles de fibrine autologues se sont multipliés mais sans succès.

En 1994 Tayapongsak et coll. font une description d'un protocole de centrifugation et de manipulations à partir de prélèvement sanguin pré-opératoire aboutissant à ce qu'on a appelé l'AFA(Autologue Fibrin Adhesion), mais qui fut un protocole assez fastidieux.

De là, les premiers à mettre au point une technique pour enrichir le milieu de cicatrisation en plaquettes furent Marx et coll. en 1998 avec le PRP. Ils se sont basés en effet sur la présence de certains des facteurs de croissance dans le sang et plus précisément dans les granules alpha des plaquettes pour mettre au point un procédé de fabrication d'un concentré plaquettaire : le PRP.

Plus tard en 2000, Choukroun et coll. mettent au point un autre concentré plaquettaire : le PRF, qui présente un protocole plus simple.

Le concentré plaquettaire est donc obtenu après centrifugation du sang total prélevé.

3.1.3.1.2 Composition et définition

- PRP :

  Il s'agit d'un petit volume de plasma autologue contenant une concentration de plaquettes humaines plus élevée que la normale.

  On a un volume de plasma de 5 ml avec une concentration en plaquettes de 1 000 000/µl.

  Le PRP contient les 7 facteurs de croissance fondamentaux :

  - PDGF : PDGF-αα, PDGF-αβ, PDGF-ββ
  - TGF-β1 et TGF-β2
  - VEGF
  - EGF

  Il contient également de la fibrine, de la fibronectine et de la vitronectine.

Il faut noter que des variations importantes dans les concentrations plaquettaires et facteurs de croissance sont observés en fonction des systèmes commerciaux utilisés et des études pour ce même système.

- PRF :

  Il s'agit d'un concentré plaquettaire et immunitaire permettant de rassembler en une seule membrane l'ensemble des constituants favorables à la cicatrisation et à l'immunité dans un prélèvement sanguin (Choukroun et coll 2004) : une matrice de fibrine polymérisée en une architecture trimoléculaire ou équilatérale, l'incorporation intrinsèque de cytokines plaquettaires et leucocytaires dans les mailles de fibrine, des plaquettes des leucocytes et également quelques cellules souches circulantes.

3.1.3.1.3 Fabrication

- PRP :

  Sa fabrication consiste à prélever un volume de sang du patient dans une poche contenant un anticoagulant, de manière à ce que le sang puisse être conservé pendant 8 heures sans risque de coagulation.

  Le sang prélevé va subir plusieurs centrifugations.

  La première (2400tours/min pendant 10 min) le sépare en trois couches :

  - La couche supérieure :PPP(Platelet-Poor Plasma) qui ne contient que du plasma.
  - La couche inférieure qui ne contient que des globules rouges.
  - La couche intermédiaire : PRP qui contient une forte concentration en plaquettes associée à des leucocytes.

  Après élimination de la fraction rouge, la seconde centrifugation (3600 tours/min pendant 15 min) permet d'obtenir un maximum de plaquettes dans un volume réduit.

  On obtient un PRP liquide qui va être activé en PRP gel par mélange avec un produit entrainant une coagulation forcée de réseau de fibrine (phosphate de calcium, thrombine bovine ou mélange avec des greffons ou des substituts osseux).

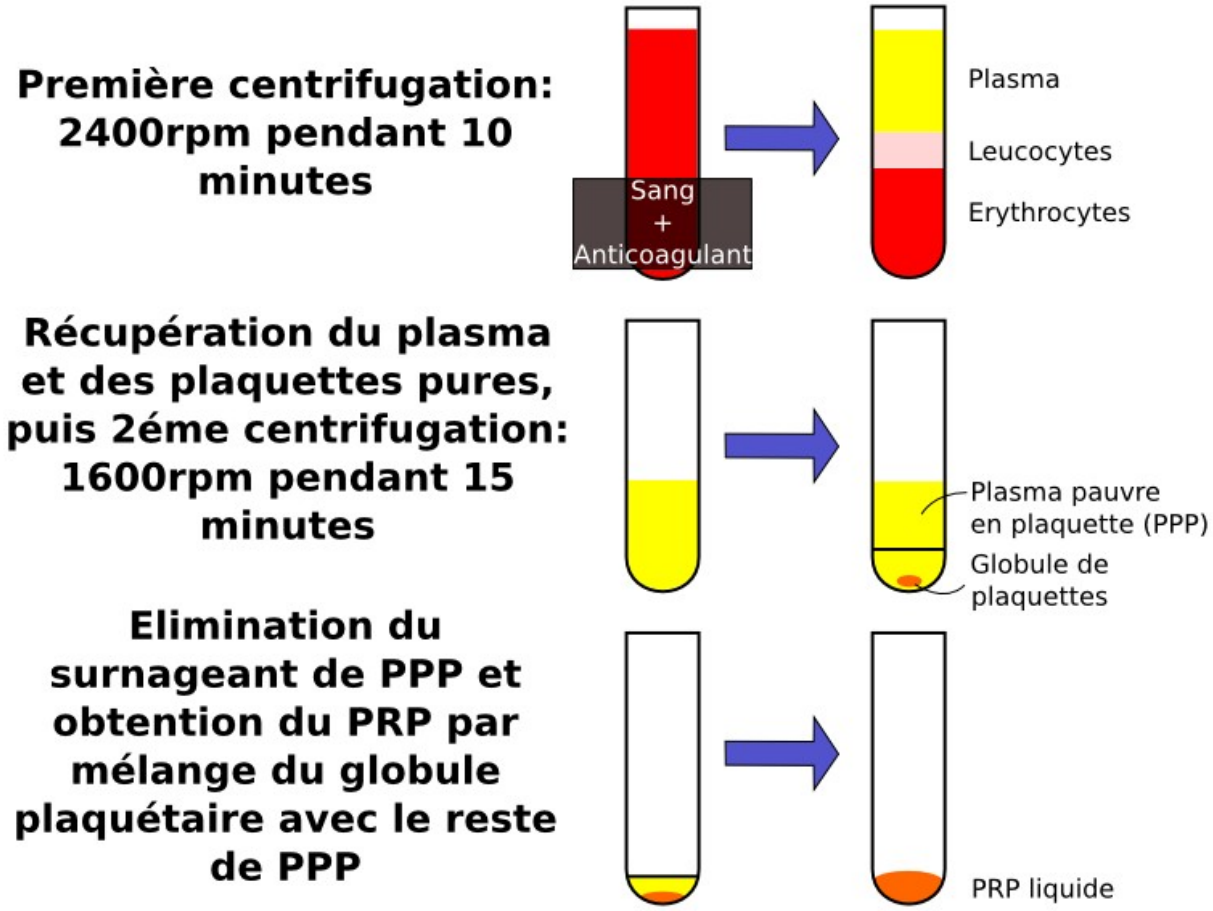
Première centrifugation: 2400rpm pendant 10 minutes
Sang + Anticoagulant
Plasma
Leucocytes
Erythrocytes
Récupération du plasma et des plaquettes pures, puis 2éme centrifugation: 1600rpm pendant 15 minutes
Plasma pauvre en plaquette (PPP)
Globule de plaquettes
Elimination du surnageant de PPP et obtention du PRP par mélange du globule plaquétaire avec le reste de PPP
PRP liquide

Illustration 7: Méthode de production du PRP

Il existe 5 laboratoires qui ont développé leur système de production de PRP : Curasan®, Friadent®, Ace®, Harvest® et 3i®.

Le PRP a trois inconvénients majeurs :

- Le prélèvement sanguin est mélangé à des anticoagulants.
- C'est un procédé long (45min) et avec des manipulations fastidieuses.
- L'activation de la thrombine bovine induit un réseau de fibrine dense et fortement chargé en facteurs de croissance.

- PRF :

Le but du PRF est d'obtenir un réseau ostéoconducteur de fibrine, contenant 2 à 3 millions de plaquettes, de la fibronectine (échaffaudage au transfert des cellules) et la totalité des leucocytes (ce qui laisse présager d'une possible action microbienne locale).

La fabrication du PRF consiste en un prélèvement sanguin du patient dans des tubes secs, c'est-à-dire sans anticoagulants.

Le sang est alors centrifugé à 2500tours/min pendant 12 min.

Dans le tube apparaissent trois couches :

- PPP en haut.
- Les globules rouges en bas.
- PRF entre les deux, avec des plaquettes et quelques globules blancs baignant dans le plasma..

Le PRF est séparé du reste et appliqué directement dans le site opératoire avant fermeture :

- Soit en état, pour maintenir le volume osseux dans les sites post-extrationnels et dans les comblements de furcations ou de poches profondes.
- Soit broyé ou coupé, pour être mélangé à des greffons autogènes ou exogènes.
- Soit comprimé entre deux compresses, pour obtenir une membrane permettant de recouvrir le site chirurgical dans le but d'éviter la migration épithéliale et de protéger rapidement le site de régénération osseuse.

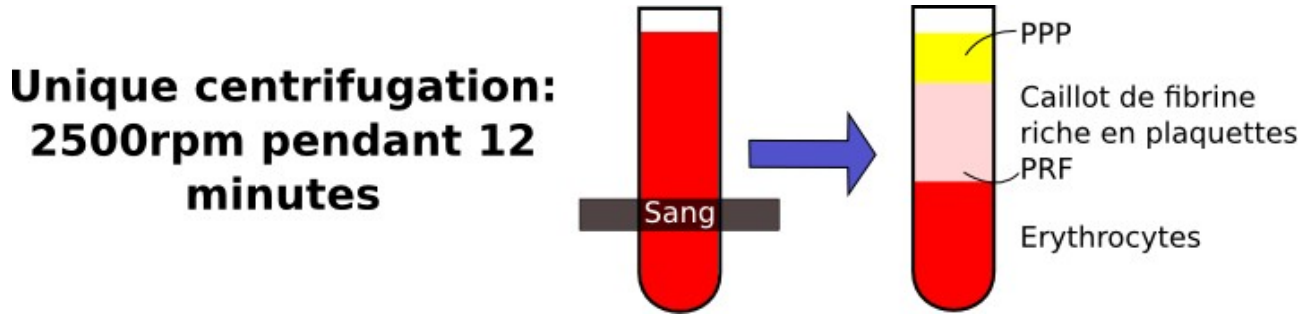

Illustration 8: Technique de fabrication du PRF

3.1.3.1.4 Indications en odontologie

- Préparation des sites implantaires
- Comblement sinusien
- Comblement alvéolaire
- Traitements des défauts osseux
- Amélioration de l'ostéointégration dans les cas défavorables (patients diabétiques, os de type IV)
- Cicatrisation parodontale.

3.1.3.1.5 Contre-indications

- Thrombocytopénies congénitales avec le syndrome de Wiskott-Aldrich
- Thrombocytopénies acquises : virales (hépatites, VIH), bactérienne(tuberculose, syphilis…), protozoaire (paludisme)
- Allergies et intoxication médicamenteuses
- Alcoolisme chronique.

3.1.3.1.6 Etudes cliniques

- PRP :

  Si l'on regarde l'ensemble des données publiées sur le sujet, seule l'étude de Marx et coll fait état d'une véritable preuve de l'interêt de l'utilisation du PRP lorsqu'il est mélangé à des greffe autogène (Marx et coll, 1998).

  Cette étude relate de l'utilisation du PRP avec une greffe autologue à la mandibule.

  Après un temps de cicatrisation de 6 mois, les auteurs relèvent l'indice de maturité de la greffe. Celui-ci est 2 fois plus important jusqu'à 4 mois avec l'utilisation de PRP, les résultats sont ensuite similaires. La densité osseuse est plus élevée dans les greffes avec ajout de PRP (74,0%±11%) comparé à une greffe sans PRP (55,1%±8%)

  Les auteurs ont conclu que le PRP augmentait et accélérait la formation osseuse lorsqu'elle est associée à une greffe osseuse.

  Yilmaz (2009) a traité 20 patients présentant une parodontite chronique avancée (défauts intra-osseux profonds de plus de 3 mm) avec du PRP combiné à une xénogreffe bovine.

  Il réalise une analyse à 12 mois et obtient les résultats suivants :

  - Réduction de profondeur de poche : 4,78±1,20 mm
  - Gain d'attache : 4,24±1,03 mm
  - Récession marginale : 0,54±0,34 mm
  - Gain de masse osseuse clinique : 3,75±0,97 mm
  - Gain de masse osseuse radiologique : 3,79±1,02 mm

  Par contre d'après l'étude de Raghoebar et coll (2005), et Boyapati et Wang (2006) il n'y aurait pas de bénéfice notable à l'utilisation de PRP lors de greffe sinusienne.

  Actuellement les résultats concernant PRP sont variables selon les études.

- PRF :

  Il n'y a que l'étude de Choukroun et coll (2004).

  Ils ont réalisé un comblement sinusien avec de l'os allogénique chez 9 patients avec ou sans PRF.

  Les prélèvements osseux sont effectués à 4 mois lors de la mise d'implants pour les 6 patients traités avec le PRF et à 8 mois pour ceux traités sans PRF en raison d'un aspect radiologique défavorable.

  Les auteurs en concluent que le PRF permet de diminuer le volume et le temps de maturation du greffon.

3.1.3.1.7 Choix PRP/PRF

- La facilité de mise en œuvre de la technique donne l'avantage au PRF.
- Les données scientifiques publiées : il y a plus d'articles concernant le PRP mais il ne favorisent pas l'utilisation de ce biomatériau ; des articles fondamentaux sur le PRF sont en cours.
- La composition des produits : celle du PRP dépend du procédé et de l'utilisateur ; la technique de production du PRF semble simple et reproductible.

Du point de vue législatif il semble que la loi de bioéthique de juin 2004 autorise le prélèvement de tissu et de cellules dans un cabinet libéral.

3.1.3.2 EMD(dérivés de la matrice amélaire)

3.1.3.2.1 Définition

Les EMP (Enamel Matrix Proteins) sont des protéines de la matrice amélaire sécrétées par la gaine épithéliale de Hertwig durant le développement dentaire. Elles sont représentées principalement par l'amélogénine, ainsi que d'autres protéines telles que tufteline, protéine tuft, protéine sérique, améloblastine, améline (Brookes et coll, 1995).

L'EMD (Enamel Matrix Derived), dérivé de la matrice amélaire, est une association de protéines hydrophobes en grande majorité. Ses effets pour stimuler la régénération ont largement été étudiés dans des études précliniques et cliniques (Hammarström et coll, 2007 ; Gutierrez et Cochran, 2003 ; Heard et coll, 2000 ; Schwartz et coll, 2000a ; Boyan et coll, 2000).

Il a été montré que les extraits amélaires avaient la capacité à induire une ostéogénèse et une cémentogénèse.

Les études in vitro ont pu démontrer un certain nombre de points concernant les effets de l'EMD ; il est notamment impliqué dans la régulation de la prolifération des ostéoblastes et de leur différenciation (Schwartz et coll, 2000a, 2000b), il contrôle la régulation ostéoclastique (Itoh et coll, 2006), il favorise la prolifération des cémentoblastes, il a un effet antibactérien (Sculean et coll, 2007), il a une activité semblable à la BMP et au TGF-β (Kawase et coll, 2000 ; Iwaha et coll, 2002).

Le produit actuellement commercialisé contenant des EMD est Emdogain.

Etant l'objet principal d'une thèse récente, il ne sera pas développé ici.

3.1.3.3 Pepgen P-15

Illustration 9: Coffret de Pepgen P-15®

Pepgen P-15 est un biomatériau commercialisé par Dentsply-Friadent.

Il influencerait la liaison cellulaire.

D'excellents résultats ont été montrés depuis 1995, avec un aval clinique, une biocompatibilité et un brevet déposé. Pepgen P-15 est approuvé par la FDA.

3.1.3.3.1 Composition et définition

Pepgen P-15 est constitué de deux composants :

- Un composant organique : une séquence d'acide aminé synthétique (P-15) assurant la liaison cellulaire et initiant la néoformation osseuse.
- Un composant inorganique : une matrice d'hydroxyapatite qui sert de substance poreuse pour la séquence d'acides aminés. C'est un matériau d'origine bovine.

Il a pour but d'initier et d'accélérer la régénération osseuse naturelle.

Il est disponible sous forme de granulés Pepgen P-15, ou de gel sous le nom de Pepgen P-15 Flow.

3.1.3.3.2 Etudes réalisées sur P-15

P-15 est un peptide synthétique à chaine courte qui imite la région de fixation cellulaire du collagène de type 1.

3.1.3.3.2.1 Etude sur les premiers effets de P-15 sur les cellules souches de la moelle osseuse, (Sollazo et coll, 2009) :

Pour étudier les propriétés ostéoinductrices de P-15, on a analysé le niveau d'expression des gènes liés à la différenciation des cellules souches mésenchymateuses en os, avec un traitement avec ce matériau.

- Méthodes :

  On a analysé l'expression des gènes liés à la différenciation des ostéoblastes en utilisant des cultures de l'os dérivé de la moelle, traité avec P-15 pendant 7 jours, afin de détecter les effets précoces de ce matériau.

  L'expression a été quantifiée à l'aide de PCR.

- Résultats et conclusion :

  P-15 participe au processus initial de différenciation des cellules souches mésenchymateuses en ostéoblastes, en induisant l'expression de facteurs liés à la différenciation, tels que SP7 (Osterix), SPP (Ostéopontine) et BGLAP (Ostéocalcine).

  P-15 est un inducteur de l'ostéogénèse sur les cellules souches humaines.

3.1.3.3.2.2 Etude sur ABM (matrice bovine)/P-15 dans la modulation de la synthèse et la prolifération des ARNm de facteurs de croissance des cellules du ligament parodontal, (Emecen et coll, 2009) :

Le but de cette étude était de montrer les effets moléculaires de ABM/P-15 sur les cellules du ligament parodontal in vitro.

- Matériel et méthodes :

  Des cellules du ligament parodontal de sujets sains ont été utilisées pour des expériences in vitro.

  Il a été évalué la prolifération cellulaire, la morphologie et la minéralisation, ainsi que l'expression des ARNm de TGF-β, IGF-1, FGF-β, VEGF, BMP-2, PDGF et COL-I (collagène type 1), sur 3 et 7 jours par PCR.

- Résultats :
  - Augmentation de la prolifération cellulaire avec ABM :P-15.
  - Augmentation de l'expression des ARMm de TGF-β et BMP-2 dans les cellules cultivées sur 3 et 7 jours.
  - Légère baisse de l'expression de IGF-1 et FGF-β.
  - Augmentation sur les 3jours de PDGF.
  - Pas de différence pour VEGF et COL-1.
  - Aucune différence dans les propriétés de minéralisation.

- Conclusion :

  ABM/P-15 améliore la capacité de régénération des cellules du ligament parodontal par contrôle de l'expression des gènes spécifiques des cellules de la cicatrisation rapide.

3.1.3.3.3 Etudes cliniques sur Pepgen P-15

Deux études ont été menées pour évaluer le matériau.

Toutes deux ont eu recours aux mêmes critères d'inclusion et d'exclusion ainsi que les mêmes interventions chirurgicales.

3.1.3.3.3.1 1ère étude (Yukna et coll, 1998)

- But :

  31 patients ont été étudiés, chacun servant comme son propre contrôle.

  On a comparé P-15 à un contrôle positif, à une allogreffe osseuse lyophilisée (DFDBA) et à un contrôle négatif (débridement chirurgical ouvert).

  Des mesures de tissus durs et mous ont été effectuées à 6-7 mois.

L'analyse a comparé la mesure de réparation du défaut, le pourcentage de réparation du défaut et la mesure de modification de crête, de retrait gingival, de modification du niveau d' attachement et de la profondeur de sondage.

	Pepgen P-15(a)	DFDBA(b)	DEBR(c)	P*
Défaut initial(mm)	3,6	4	3,8	
Défaut résiduel(mm)	0,7	1,5	1,3	a/b, a/c
Remplissage défaut(mm)	2,8	2	1,5	a/b, a/c
Pourcentage remplissage défaut(%)	72,3	51,4	40,3	a/b, a/c
Résorption crête(mm)	0,1	0,5	1,0	a/c, b/c
Poucentage défaut résolu(%)	79,9	64,6	66	a/b, a/c

Tableau 6: Résultats relatifs au défaut à 6-7 mois après application de P-15.

(a) Le materiau PepGen P-15 s' appelait autrefois OsteoGrafR/CS-300
(b) DFDBA = allogreffe osseuse lyophilisee demineralisee
(c) DEBR = debridement du defaut (pas de materiau de greffe)
P* indique que, lorsque les donnees de la colonne a sont comparees a celles de la colonne b, les donnees de la colonne b a celles de la colonne c, ou les donnees de la colonne a a celles de la colonne c, une analyse de la variance a un critere de satisfaction parametrique avec Student Neuman-Keuls et une analyse de la variance non parametrique Kruskall-Wallis par Ranks avec post-test de Dunn, indiquaient une signification statistique.

Traitement	≥90%	≥50%	<50%	<20%	%réussis*
Pepgen P-15					
nombre	9	18	4	0	87%
%	29	58	13	0	
DFDBA					
nombre	5	13	4	9	58%
%	16	42	13	29	
DEBR					
nombre	2	11	10	8	41%
%	6	35	32	26	

Tableau 7: Cas faisant état de "résultats positifs" quant au remplissage du défaut avec P-15.

DFDBA = allogreffe osseuse lyophilisee demineralisee
DEBR = debridement du defaut (pas de materiau de greffe)
Les resultats positifs sont definis comme le pourcentage de cas faisant etat d'un remplissage du defaut de plus de 50 %.
Les resultats favorables* sont definis comme le pourcentage de patients presentant des ≪ resultats positifs.

- Résultats :

  Il semblerait que P-15 permette d'obtenir une amélioration graduelle des chances de réussite par rapport au matériau de référence.

3.1.3.3.3.2 2ème étude (Krauser et coll, 2000)

Elle a pour but d'évaluer l'utilité ou la valeur clinique de l'addition de P-15 à Ostéograf/N-300 pour créer le matériau Pepgen P-15.

L'étude porte sur 33 patients et fait une comparaison clinique entre Pepgen P-15 et Ostéograf/N-300.

Elle montre une amélioration statistiquement significative du remplissage du défaut lorsque Pepgen P-15 est utilisé comparé à Ostéograf/N-300.

3.1.3.3.4 Mode d'emploi

Les particules de PepGen P-15 sont fournies en flacons stériles. Des seringues vides sont fournies séparément.

- Emballage de flacon sans seringue :

  Retirer le flacon de son emballage stérile en ayant recours a une technique stérile. Débiter la quantité désirée de particules de PepGen P-15 dans une boite stérile.

  Il conviendra d'humidifier les particules de PepGen P-15 a l'eau stérile ou au soluté salé stérile pour faciliter leur transfert au site chirurgical a l'aide d'instruments conventionnels tels que curettes ou porte-amalgame plastique.

- Emballage de flacon avec seringue :

  Sortir le flacon (avec le raccord flacon-seringue) et la seringue de leurs emballages stériles (fig. 1 et 2). Rétracter le piston de la seringue. Oter le capuchon du raccord flacon-seringue et introduire l'embout de la seringue dans le raccord (fig. 3). Introduire la quantité voulue de particules PepGen P-15 dans la seringue et la détacher du flacon (fig. 4). Placer le bouchon-filtre sur l'embout de la seringue. Mouiller les particules de PepGen P-15 pour en faciliter l'application.

  Aspirer de l'eau stérile ou du soluté salé stérile dans la seringue par le capuchon-filtre jusqu'a ce que le niveau de liquide s'élève légèrement au-dessus des particules de PepGen P-15 .

  Laisser reposer la seringue pendant au moins 10 a 15 minutes avant de l'appliquer au site chirurgical. Expulser l'excédent de liquide en appuyant légèrement sur le piston de la seringue. Ne pas compacter les particules de PepGen P-15 afin de ne pas risquer de boucher la seringue au moment de l'application. Lorsqu'elles sont mouillées, les particules de PepGen P-15 s'appliquent sans difficulté avec la seringue. Préparer un nombre suffisant de seringues a l'avance afin de ne pas perdre de temps pendant l'intervention.

  Ne pas recharger les seringues.

Concentrés plaquettaires	PRP	PRF
	-Concentration de plaquettes humaines+++ -Contient : PDGF, TGFβ, VEGF, EGF -Inconvénient : procédé long, fastidieux -Augmente et accélère la formation osseuse en association à une greffe osseuse.	-Matrice de fibrine polymérisée -Contient : cytokines plaquettaires et leucocytaires, plaquettes, quelques cellules souches -Avantage : facilité de mise en oeuvre -Diminue le temps de maturation du greffon dans le comblement sinusien.
EMD	-Association de protéines hydrophobes de la matrice amélaire (amélogénine +++) -Induction ostéogénèse et cémentogénèse -Emdogain®	
Pepgen P-15®	-Approuvé par FDA -Composants : • P-15 (acide aminé), initie la néoformation osseuse, assure la liaison cellulaire • matrice d'hydroxyapatite -Initie et accélère la régénération osseuse -Améliore les chances de réussite de comblement des défauts osseux par rapport à l'allogreffe osseuse.	

Tableau 8: Récapitulatif de l'"application de plusieurs facteurs"

3.2 Apport de cellules

3.2.1 Introduction

Parmi les différentes approches de livraison des facteurs de croissance, la plus utilisée est, comme vu précédemment, délivrer la protéine directement sur le site.

L'inconvénient majeur de cette technique est la dégradation des molécules exposées à un environnement in vivo (même avec un biomatériau transporteur). En effet il y a une instabilité et une dilution rapide, due certainement à la dégradation protéolytique et la solubilité du véhicule de livraison (Giannobile et coll, 2002). De plus la demie-vie de ces protéines est considérablement réduite ; leur durée d'exposition est donc insuffisante pour agir sur les ostéoblastes et cémentoblastes.

Une nouvelle approche biologique alternative de la régénération parodontale consiste à utiliser les cellules du patient pour reformer de l'os.

Les cellules souches mésenchymateuses (CSM) sont des cellules souches pluripotentes encore indifférenciées qui peuvent donner, après prolifération et différenciation, des lignées cellulaires osseuses. Ces cellules ne sont pas ostéoinductrices à proprement dit mais ostéoformatrices. Le but de la recherche est donc d'apporter directement sur le site désiré ces cellules ostéogéniques.

Il existe quatre stratégies principales expérimentales :

- L'apport de moelle osseuse fraiche
- L'apport de CSM après purification et multiplication cellulaire
- L'apport d'ostéoblastes déjà différenciés (ces 3 premières stratégies constituent un apport à partir des cellules du patient)
- L'apport de cellules génétiquement modifiées pour exprimer un facteur de croissance (Il s'agit de la thérapie génique).

Il existe à l'heure actuelle plus de 300 articles publiés sur l'utilisation des cellules souches chez le rongeurs, mais seulement deux études ont été publiées à ce jour chez l'homme (étude de Cancedda et coll, 2003, étude de Schimming et coll, 2004).

Pour pouvoir utiliser les CSM il faut quatre conditions préalables : un nombre suffisant de cellules ostéogéniques, une structure appropriée pour le support de ces cellules, des facteurs pour stimuler la différenciation in vivo ainsi qu'une vascularisation suffisante (dépend de la taille du défaut).

La taille des défauts chez les rongeurs ne dépassant pas 5 mm, il y a un afflux suffisant en oxygène et en nutriments et la vitesse de remodelage est au moins trois fois plus élevée que chez l'Homme.

C'est pourquoi l'orientation des recherches doit se faire sur les problèmes de diffusion insuffisante en oxygène et en nutriments ainsi que le biomatériau de support.

Pour améliorer l'apport en oxygène et nutriments on peut ajouter un facteur angiogénique ou des cellules endothéliales pour stimuler la croissance des vaisseaux, ou reporter l'application de CSM par rapport à l'implantation du biomatériau de support (en effet immédiatement après l'implantation du biomatériau se forment des vaisseaux sanguins et des fibroblastes prolifèrent).

(Gert et coll, 2007)

L'utilisation des CSM en chirurgie dentaire n'est pas encore maitrisée alors qu'elle est largement utilisée en hématologie ou chez les grands brûlés par exemple.

3.2.2 Apport à partir des cellules du patient

3.2.2.1 Apport de moelle osseuse fraiche

C'est la première technique qui a été employée.

La moelle osseuse contient des cellules souches mésenchymateuses.

La technique consiste à prélever la moelle du patient sur la crête iliaque et l'injecter dans le site osseux cible.

C'est une technique simple et non coûteuse, mais elle présente cependant des limites.

En effet la quantité de moelle osseuse disponible est insuffisante et la qualité des CSM varie avec l'âge et la pathologie osseuse.

3.2.2.2 Apport de CSM après purification et multiplication cellulaire

On isole facilement les CSM de la moelle osseuse grâce à leur molécule d'adhésion de surface.

On peut multiplier plus d'un milliard de fois les CSM en milieu spécifique sans que la capacité de différenciation en ostéoblastes soit perdue.

La population cellulaire nécessaire pour l'ostéoformation est de $7{,}5 \times 10^6$ cellules/ml (Pittenger et coll, 1999).

Plusieurs études expérimentales ont prouvé la capacité ostéogène des CSM transplantées en zone de perte de substance osseuse. Notamment une étude pilote expérimentale menée par Schliephake et coll, (2001) :

Des cellules ostéoprogénitrices de 8 moutons ont été cultivées à partir de biopsie osseuse de la crête iliaque et mélangées avec de la matrice d'os bovin (phosphate de calcium).

Celles-ci ont été transplantées dans des défauts de 35 mm de longueur crées au niveau de la mandibule des animaux. Quatre moutons servent de témoins.

Après 5 mois on retrouvait beaucoup plus de formation osseuse dans le groupe avec transplantation de CSM que dans le groupe témoin (P=0,028). La formation osseuse était de 34,4 % pour le premier groupe, et 10,4% pour le deuxième.

Cette étude nous montre que la réparation des défauts segmentaires de la mandibule peuvent être améliorés par la transplantation de cellules ostéoprogénitrices autogènes dans du phosphate de calcium.

Kawagachi (2004) a également montré dans une étude que des CSM isolées de chiens et développées in vitro, puis mélangées avec du collagène type 1 et auto-transplantées dans des défauts de furcation de classe III provoquaient une régénération de l'os, du cément, du ligament parodontale beaucoup plus importante que dans le groupe témoin n'ayant reçu que du collagène. On retrouvait $2x10^7$ cellules/ml dans le groupe avec des CSM.

3.2.2.3 Apport d'ostéoblastes déjà différenciés

Pour orienter la différenciation des lignées cellulaires ostéogéniques, on met en culture les CSM dans un milieu spécifique (déxaméthasone, acide ascorbique…).

Les cellules sont alors implantées au stade d'ostéoblastes.

Les travaux d'Okumua et Yoshikawa ont montré que ces cellules différenciées implantées en zone de perte osseuse provoquaient une synthèse osseuse plus importante et plus abondante que les CSM non différenciées (Okumura, Yoshikawa, 2006).

Chez l'Homme Schimming et coll ont réalisé une étude sur l'augmentation de sinus maxillaire avec de la matrice osseuse dérivée des cellules du périoste mandibulaire (apport d'ostéoblastes déjà différenciés) sur un support Ethisorb, sur 27 patients.

Chez 18 patients on obtient d'excellents résultats clinique, radiologique et histologique après 3 mois, la biopsie osseuse montrant la formation d'os trabéculaire minéralisé.

3.2.2.4 Utilisation de cellules fœtales

Les tissus fœtaux (placenta, amniotique, cordon ombilical) sont décrits comme une source potentielle de cellules pour l'ingénierie tissulaire. Mais les cellules sont difficiles à développer et elles doivent être greffées fraichement.

Montjovent et coll (2004) ont réalisé une étude sur la comparaison des cellules fœtales avec les CSM adultes.

Le temps de doublement des cellules fœtales osseuses est comparable à celui des CSM adultes mais nettement plus court que celui des ostéoblastes adultes. Le processus de minéralisation de l'os des cellules fœtales commence plus tôt.

Ces cellules peuvent être stockées gelées et utilisées lorsque cela est nécessaire.

	Collection	**Culture**	**Expansion**	**Stockage**	**Formation osseuse**	**Absence de réaction immunitaire**	**Absence de réaction inflammatoire**
Moelle osseuse	++	NA	NA	NA	+	NA	++
CSM	+	++	++	++	++	++	++
Pré-ostéoblastes	+	++	+	+	++	NA	++
Cellules modifiées génétiquement	++	+	++	+	++	NA	++
Cellules osseuses foetales	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Tableau 9: Tableau comparatifs des différentes sources de cellules (Pioletti et coll, 2006)

3.2.2.5 Matériaux commercialisés

- *Bioseed®Oral Bone : (Bio Tissue Technologies, Germany)*

Il s'agit d'une greffe tridimensionnelle d'os de mâchoire utlisée principalement en dentisterie pour l'augmentation de sinus.

Ce matériau est utilisé en clinique depuis 2001.

La technique consiste à prélever les propres cellules du périoste mandibulaire du patient et de les cultiver dans le sérum sanguin autologue. On réalise ensuite la greffe.

Strietzel (2006) a réalisé une greffe d'os à partir de Bioseed puis après 6 mois a posé 2 implants. Une biopsie osseuse a été réalisée et a montré la formation d'os lamellaire dense.

- *Co.don ostéotransplant® (co.don, Germany) :*

Il s'agit d'une greffe de cellules ostéoprogénitrices autologues, indiquée en dentaire pour l'élévation de sinus.

- *Osteocel® (Osiris Therapeutics, USA) :*

Il s'agit d'une matrice osseuse qui préserve les CSM et ostéoprogénitrices trouvées dans la moelle osseuse.

Ce matériau est utilisé depuis 2005.

Il présente une faible immunogénicité.

Mc Allister et coll (2009) ont relevé une teneur élevée en os à 16 semaines après traitement avec Osteocel dans l'augmentation de sinus.

3.2.3 Apport de cellules génétiquement modifiées

3.2.3.1 Introduction

On appelle thérapie génique « une stratégie thérapeutique qui consiste à faire pénétrer des gènes dans les cellules ou les tissus d'un individu pour traiter une maladie. La thérapie génique vise à remplacer ou complémenter un allèle mutant défectif par un allèle fonctionnel ou à surexprimer une protéine dont l'activité aurait un impact thérapeutique ». En parodontologie il s'agit de la capacité à orienter l'expression cellulaire par la maîtrise des facteurs ostéoinducteurs.

Ce concept a été évoqué pour la première fois fin des années 1960.

Le premier essai clinique a été réalisé par Rosenberg aux Etats-Unis fin des années 1980.

Lieberman a été l'un des premiers à utiliser cette technique pour stimuler la synthèse osseuse.

En 1995 l'impact potentiel de la thérapie génique sur la dentisterie est décrit.

Outre le domaine de la parodontologie, on a décrit également l'utilisation de la thérapie génique en dentisterie pour les glandes salivaires, les maladies auto-immunes, la douleur, la vaccination et le cancer.

La technique de la thérapie génique consiste à modifier le patrimoine génétique d'une cellule par l'introduction d'un vecteur (adénovirus par exemple), pour lui apporter la séquence d'ADN codant pour une rhBMP par exemple.

On dépose ensuite cette cellule sur le site cible et celle-ci va exprimer la protéine ostéoinductrice définie.

Les cellules indifférenciées du site receveur se différencient sous l'effet de la BMP par les cellules implantées.

Il est donc nécessaire d'avoir trois bases : un gène, un vecteur et une cellule cible.

L'avantage de cette technique est qu'il y a un niveau constant et plus important de production de la protéine.

L'inconvénient majeur est qu'il faut réussir à cloner et intégrer le gène, et s'assurer de la sécurité et de l'efficacité de celui-ci.

3.2.3.2 Difficultés techniques de la thérapie génique

- La livraison du gène : elle n'est pas facile et non prévisible
- La durabilité et l'intégration du gène
- La réponse immunitaire : le vecteur viral peut être reconnu comme étranger et peut activer le système immunitaire, ce qui entrave l'efficacité de la thérapie génique ou induit des effets secondaires graves
- La sécurité des vecteurs

3.2.3.3 Différents types de vecteurs

Il existe quatre types de vecteurs : les viraux, les adénoviraux, les rétroviraux et les non viraux (ou synthétiques).

- Vecteurs viraux :

  Les virus sont capables de pénétrer dans la cellule et d'y mélanger leur matériel génétique. Ce sont de bons candidats, cependant il faut atténuer leur virulence et diminuer les réactions immunitaires. Pour cela on utilise des virus modifiés génétiquement, c'est-à-dire qu'on élimine les séquences des virus qui codent pour les protéines associées à un comportement pathogène du virus. On reconstruit ensuite le génome du virus pour porter les séquences du gène pathogène.

  Les inconvénients des virus est qu'ils s'adressent à un grand nombre de types cellulaires alors qu'on veut qu'ils n'infectent qu'un type cellulaire.

- Vecteurs adénoviraux :

  La caractéristique de l'adénovirus est de faire pénétrer son ADN dans la cellule cible sans attendre la mitose et sans insérer la nouvelle information génétique dans le génome de la cellule cible. Restent cependant plusieurs problèmes : l'ADN viral ne participe pas

à la division cellulaire, ce qui entraine une cellule malade et une cellule guérie après la division cellulaire ; le vecteur garde un garde un caractère potentiellement pathogène car on n'arrive pas à ce jour à se débarrasser complètement des gènes toxiques de l'ADN viral.

- Vecteurs rétroviraux :

  Le génome des rétrovirus est composé d'ARN et non d'ADN. A la différence des virus à ADN, ils permettent d'insérer la nouvelle information génétique dans le génome de la cellule cible. Le nouveau gène se transmet donc de cellules mères en cellules filles de manière égale sans « dilution » de l'information génétique dans le temps.

  L'infection par un rétrovirus implique donc une étape de rétrotranscription de l'ARN en un fragment d'ADN qui pourra ensuite être associé (intégration) aux chromosomes après pénétration dans le noyau cellulaire.

  Pour cette lecture et cette intégration, le rétrovirus utilise à la fois des protéines virales et des protéines cellulaires .

  Une fois intégré, le génome du rétrovirus sous sa forme ADN est stable et transmis comme n'importe quel gène de la cellule.

  Même s'ils sont un atout pour la pérennisation et la transmission de l'information génétique, des essais ont conduit à l'apparition de leucémies chez certains patients.

- Vecteurs non viraux :

  Ils sont composés d'ADN plasmidique ou assimilé. Ils ne présentent pas de risque de virulence puisque ce sont des particules inertes.

  Ces vecteurs sont produits par des bactéries. Ils sont plus faciles à produire et à stocker.

  Par contre il existe un problème d'efficacité (10^{-9} moins efficace que les vecteurs viraux) (Franceschi et coll, 2000) et un problème pour libérer l'ADN de son vecteur.

3.2.3.4 Deux stratégies thérapeutiques

Il existe deux stratégies : ex vivo et in vivo.

- La stratégie ex vivo :

  Elle consiste à prélever les cellules cibles de l'individu et de les soumettre aux vecteurs de transfert du gène thérapeutique en dehors de l'organisme. Ces cellules sont ensuite réinjectées au patient.

Elle présente comme avantage que les cellules peuvent être transduites en culture dans des conditions très contrôlées et implantées sur un support approprié. Par contre il existe une morbidité associée à la récolte des cellules du patient.

- La stratégie in vivo :

  On injecte directement le vecteur dans le tissu cible et on le laisse agir. L'avantage est que la morbidité associée à la récolte des cellules du patient dans la technique ex-vivo est évitée. Elle présente comme inconvénient le moindre contrôle sur les populations cellulaires spécifiques qui vont être génétiquement modifiées, ce qui peut induire une réponse immunologique contre le vecteur.

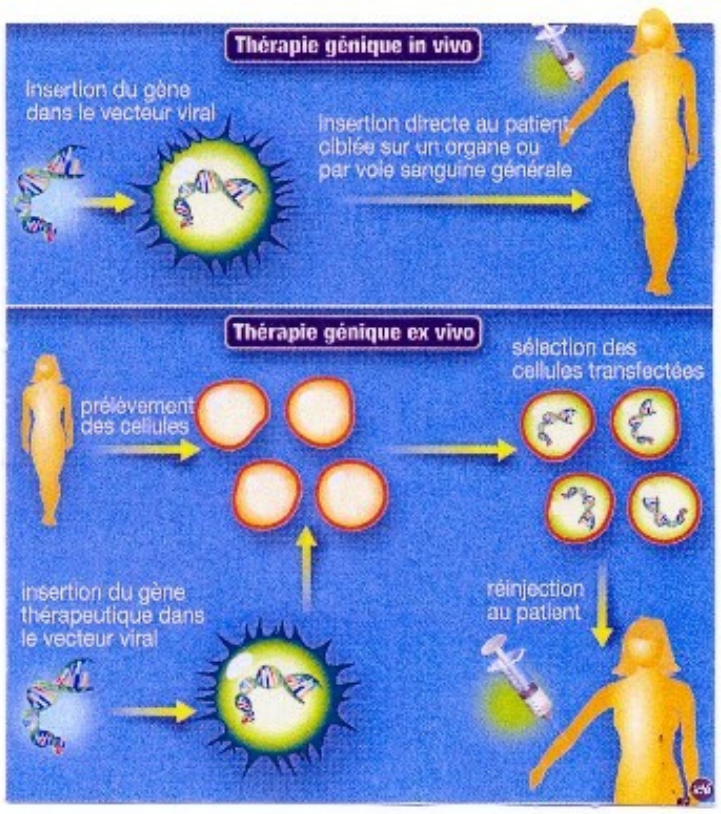
Thérapie génique in vivo
Insertion du gène dans le vecteur viral
Insertion directe au patient ciblée sur un organe ou par voie sanguine générale
Thérapie génique ex vivo
sélection des cellules transfectées
prélèvement des cellules
insertion du gène thérapeutique dans le vecteur viral
réinjection au patient

Illustration 10: Les 2 approches de la thérapie génique

3.2.3.5 Expression d'un seul facteur ostéoinducteur

La première preuve de succès de l'utilisation de l'ingénierie tissulaire parodontale avec un transfert de gène s'est faite par Jin et coll (2003).

Ces derniers ont utilisé le transfert du gène BMP-7 ex-vivo pour combler des défauts alvéolaires de 0,3 x 0,2 cm.

Des fibroblastes dermiques ont reçu un adénovirus contenant soit une protéine fluorescente verte (groupe contrôle) soit BMP-7 (Ad-BMP-7) soit un antagoniste de BMP (Ad-noggine). Les cellules ont ensuite été ensemencées sur un support de gélatine puis transplantées dans des grands défauts d'os alvéolaire mandibulaire chez le rat.

Ad-noggine a inhibé l'ostéogénèse par rapport au groupe contrôle et Ad-BMP-7, tandis que Ad-BMP-7 a provoqué une rapide ostéogénèse et une cémentogénèse.

Plus récemment Dunn et coll (2005) ont réalisé une étude sur la livraison in vivo de Ad-BMP-7 avec une matrice de collagène sur des défauts importants autour d'implants. Il a été montré qu'il se produisait une amélioration des comblements des défauts avec une nouvelle formation d'os coronaire et un nouveau contact os-implant.

Jin et coll (2004) ont également travaillé sur le transfert in vivo de PDGF dans des grands défauts d'os alvéolaire chez le rat (0,3 x 0,2 cm). Trois groupes ont été utilisés : un groupe avec du collagène seul, un groupe avec du collagène et l'adénovirus (groupe contrôle), un dernier avec le mutant PDGF. Ce dernier groupe a présenté une grande présomption pour la régénération de l'os et du cément (jusqu'à 4 fois plus que le groupe contrôle).

Franceschi (2000) a réalisé des études sur l'utilisation de AdCMV-BMP-7 (CMV = cytomégalovirus).

Pour la transduction in vivo le virus a été adsorbé sur une matrice de poudre d'os déminéralisé et implanté dans des sites sous-cutanées ou intra-musculaire chez la souris. Après 4 semaines les implants ont été enlevés et l'analyse histologique montre un périmètre bien défini d'os cortical et trabéculaire avec une cavité médullaire évidente contenant des cellules hématopoïétiques ainsi que des zones minéralisées contenant des ostéocytes.

Pour la transduction ex vivo, une lignée clonale de fibroblastes a été transduite avec AdCMV-BMP-7, puis suspendues dans un hydrogel de collagène type 1 et implantée en voie sous cutanée. Le montant de l'os formé s'est révélé proportionnel au nombre de cellules implantées, avec une augmentation pendant les 4 premières semaines après implantation puis une persistance pendant au moins 8 semaines.

Concernant les études sur le transfert du gène BMP-2 on peut citer celle de Park et coll (2007) où la transduction in vivo de BMP-2/ADNc (vecteur liposomal) dans des défauts osseux péri-implantaire ont entrainé l'amélioration de la régénération osseuse ainsi que le contact os-implant.

Tang et coll (2006) ont également montré que des CSM transfectées avec un plasmide de rhBMP-2 sur une matrice d'hydroxyapatite et transplantées dans des défauts mandibulaires de rat entrainait une nouvelle formation osseuse à 4 semaines, qui semble mûre à 8 semaines.

La limite de l'expression d'un seul facteur de régénération est qu'un seul facteur n'est exprimé qu'à un seul moment. Il ne parvient pas à imiter de manière adéquate le processus de développement normal de l'os.

Pour y remédier on a commencé récemment à développer des approches combinatoires de thérapie génique pour la régénération osseuse.

3.2.3.6 Seconde génération d'approche de thérapie génique : l'interaction de gènes

3.2.3.6.1 Combinaison de BMP

Des études in vitro ont été menées par Franceschi et coll (2004) et Zhao et coll (2005) sur la combinaison de BMP-2, BMP-4 et BMP-7 :

- Pour la transduction ex-vivo, des lignées de CSM ont été transduites avec des adénovirus individuels contenant l'ADNc de BMP-2, 4 ou 7 sous le contrôle du promotteur CMV (Ad-BMP-2, Ad-BMP-4, Ad-BMP-7). Il en résulte une stimulation synergique de la différenciation en ostéoblastes.
- Pour la transduction in vivo on a utilisé des fibroblastes combinés à un virus et implantés en sous cutané chez la souris. Il en résulte une forte synergie observée avec le traitement Ad-BMP-2/BMP-7 qui induit 2 à 3 fois plus d'os que l'activité Ad-BMP seule.

On peut conclure de cette étude l'amélioration spectaculaire de l'ostéogénèse par l'utilisation d'une combinaison spécifique d'interaction moléculaire dans la thérapie génique.

Une étude similaire de Zhu et coll (2004) a montré la différenciation in vitro en ostéoblastes par combinaison de Ad-BMP-2 et Ad-BMP-7.

3.2.3.6.2 Synergie avec des facteurs angiogéniques

Le développement normal de l'os nécessite la formation de vaisseaux sanguins. C'est pour cela qu'on a tenté d'associer un facteur angiogénique aux facteurs ostéogéniques dans la thérapie génique.

L'étude de Peng et coll (2002) porte sur l'intéraction possible de BMP avec des signaux angiogéniques. Ils ont utilisé le transfert d'un gène rétroviral pour établir des cellules souches exprimant BMP-4, ainsi que le facteur de croissance vasculaire VEGF. Ce dernier n'a pas renforcé par lui-même l'activité ostéogénique des cellules souches mais a agit en synergie avec BMP-4 pour augmenter la survie cellulaire, stimuler la formation osseuse et réparer les défauts de la voûte crânienne.

Les effets de VEGF dépendent du ratio VEGF/BMP-4 et un excès de VEGF/BMP inhibe l'ostéogénèse.

Une autre étude de Huang a montré que l'ostéogénèse est renforcée par la combinaison de BMP-4/VEGF (Huang et coll, 2005).

3.2.3.6.3 Utilisation d'un facteur de transcription ostéogénique pour améliorer la réactivité des cellules souches à BMP

Runx2 est le produit du gène Cbfa1 qui est maître dans le contrôle de l'os et de la différenciation de cartilage hypertrophique (Ducy et coll, 1997).

Il est essentiel pour la différenciation des ostéoblastes.

Le squelette des souris Cbfa1-/- est totalement dépourvu de minéraux (Komori et coll, 1997).

Il est probable que certaines actions des BMP soient dépendantes de ce facteur de transcription.

Différentes études montrent que BMP et Runx2 peuvent stimuler la formation osseuse par des biais distincts mais complémentaires (Jonk et coll, 1998 ; Hanai et coll, 1999 ; Komori et coll, 1997). Il est possible d'améliorer l'activité ostéogénique des cellules mésenchymateuses par la transduction d'un vecteur d'expression Runx2.

Yang et coll (2003) ont analysé comment un adénovirus Runx2 peut induire la différenciation en ostéoblastes dans des lignées de CSM et examiné les interactions Runx2/BMP-2 dans la stimulation de la différenciation ostéoblastique in vitro et in vivo.

Les cellules transduites in vitro avec Ad-Runx2 présente des marqueurs ostéoblastiques (tels que phosphatase alcaline et ostéocalcine) mais Runx2 est faiblement stimulé dans la minéralisation de la matrice.

Les cellules transduites avec Ad-BMP-2 présentent un niveau élevé de minéralisation mais expriment peu de phosphatase alcaline et d'ostéocalcine.

Lorsque les cellules sont transduites avec les deux, la différenciation en ostéoblastes est 10 fois supérieure à ce qu'elle est avec Ad-Runx2 ou Ad-BMP-2 seuls.

On peut conclure de cette étude que la transduction avec Ad-Runx2 augmente la sensibilité à un traitement avec Ad-BMP-2

Une mesure in vivo a également été faite ; des cellules infectées par un virus Ad-Runx2 ont été implantées en sous cutanée chez la souris immunodéficiente. Celles-ci ont produit une quantité limitée d'os et de cartilage, tandis que l'ossification s'est avérée beaucoup plus importante avec Ad-BMP-2 + Ad-Runx2.

L'étude de Zhao et coll (2005) a montré la capacité de Ad-Runx2 à renforcer l'activité ostéogénique des CSM de souris in vitro et in vivo.

Toutes ces études nous montrent que la réactivité des populations de cellules ostéoprogénitrices à BMP peut être améliorée in vitro et in vivo par des facteurs tels que Runx2.

3.2.3.7 Futures stratégies de la thérapie génique pour prévenir des maladies parodontales

- L'approche génétique de la résistance aux antibiotiques du biofilm :

  Le biofilm est une surface d'attache aux bactéries. Une de ces propriétés est qu'il a développé une résistance aux antibiotiques.

  On a rapporté récemment un déterminant génétique du haut niveau de résistance dans un pathogène opportuniste Gramm -, Pseudomonas aeruginosa (Mah et coll , 2003). Le locus identifié est ndvB, qui est nécessaire pour la synthèse des glucanes périplasmiques. Ces derniers empêchent les antibiotiques d'atteindre leur site d'action.

- Thérapie génique et vaccination parodontale :

  Un modèle expérimental chez le rat a montré la réponse de l'hôte à une hémagglutine B recombinante de Porphyromonas gingivalis (Katz et coll, 1999).

Apport de cellules du patient	Apport de moelle osseuse fraîche	Apport de CSM après purification et multiplication	Apport d'ostéoblastes différenciés	Apport de cellules foetales
	-1ère technique employée -Contient des CSM -Avantage : technique simple, non coûteuse -Inconvénient : quantité de moelle osseuse disponible insuffisante.	-Amélioration de la réparation des défauts segmentaires de la mandibule -Régénération de l'os, cément, ligament parodontal dans les défauts de classe III de furcation beaucoup plus importante que l'apport de COL seul.	-Synthèse osseuse plus importante que les CSM non différenciées -Formation d'os trabéculaire minéralisé dans l'augmentation de sinus.	-Placenta, liquide amniotique, cordon ombilical -Source potentielle de cellules pour l'ingénierie tissulaire.
Apport de cellules génétiquement modifiées=thérapie génique	-Différents vecteurs ; viraux, adénoviraux, rétroviraux, non viraux -Deux stratégies : • ex-vivo : -cellules prélevées sur l'individu, transfert de gène en dehors de l'organisme, réinjection -morbidité associée à la récolte des cellules du patient • in-vivo :- vecteur injecté directement dans le tissu cible -pas de morbidité liée à la récolte -Expression d'un seul facteur : • Ad-BMP7 : ostéogénèse, cémentogénèse rapide, amélioration du comblement des défauts osseux autour des implants • Ad-PDGF : régénération os, cément • BMP2-ADNc : amélioration de la régénération osseuse et du contact os-implant dans les défauts osseux péri-implantaires • Limite : un seul facteur exprimé à un seul moment. -Intéraction de gènes : • Combinaison de BMP : amélioration de l'ostéogénèse, différenciation en ostéoblastes • Synergie avec un facteur angiogénique (VEGF) : ostéogénèse renforcée • Synergie avec un facteur de transcription ostéogénique (Runx2) : amélioration de l'activité ostéogénique des CSM.			

Tableau 10: Récapitulatif de l'"apport de cellules"

4 Conclusion

La compréhension des mécanismes de la régénération parodontale a permis des avancées dans la thérapeutique de la maladie parodontale. Elle se base soit sur une approche moléculaire soit sur une approche cellulaire.

Du point de vue moléculaire on s'est orienté notamment sur l'utilisation des facteurs de croissance ou des protéines qui ont un potentiel ostéoinducteur.

On a pu produire par génie génétique des protéines recombinantes humaines, ce qui a pu écarter le problème de prélèvement d'os en quantité suffisante chez l'homme ou de biocompatibilité pour les prélèvements chez l'animal.

Parmi les facteurs de croissance ostéoinducteurs, une grande famille a suscité un vif intérêt : les BMP. Elles peuvent être livrées sur différents supports, mais principalement sur des éponges de collagène. Les plus ostéoinductrices sont les rhBMP-2 et rhBMP-7. Que ce soit pour l'intégration des implants après augmentation sinusienne ou le traitement des défauts infra-osseux les études montrent une amélioration de la régénération osseuse par leur utilisation. Des produits sont actuellement commercialisés aux Etats-Unis : Infuse Bone Graft® contenant rhBMP-2 et Osigraft® contenant rhBMP-7 (ce dernier n'est pas encore autorisé par la FDA pour son application dentaire).

Une autre famille de facteur de croissance utilisée est rhPDGF-BB. Lui aussi a montré par les études une amélioration de la régénération parodontale. La FDA a autorisé l'utilisation d'un produit en contenant : GEM21S®.

Le rhGDF-5 est un facteur de croissance appartenant aux BMP. Les études lui confèrent un effet ostéoinducteur et son application semble sans risque.

Les recherches se tournent également sur les effets des statines, hypolidémiants qui seraient impliqués dans la différenciation des ostéoblastes, mais leur capacité ostéoinductrice n'a pas encore été prouvée et les investigations n'en sont qu'à leur début.

Pour améliorer le pouvoir régénérateur on a utilisé des protéines ostéoinductrices en association.

On y retrouve les concentrés plaquettaire tels que le PRP (contient PDGF, TGFβ, VEGF, EGF) et le PRF, qui augmentent la formation osseuse. Ils sont fabriqués à partir du sang du patient et présentent une concentration de plaquettes humaines élevée.

Les EMD induisent une ostéogénèse et cémentogénèse ; elles sont actuellement commercialisées sous le nom de Emdogain®.

Le Pepgen P-15® a été approuvé par la FDA ; il contient P-15, un acide aminé qui initie la néoformation osseuse, ainsi qu'une matrice d'hydroxyapatite. Les études montrent qu'il augmente les chances de réussite de comblement des défauts osseux.

Du point de vue cellulaire c'est l'utilisation des CSM qui fait l'objet de nombreuses recherches.

Celles-ci, sous l'effet de certains facteurs de croissance, peuvent se différencier en ostéoblastes. On peut les prélever à partir de la moelle osseuse, les purifier et les multiplier en laboratoire, ou les injecter au stade d'ostéoblastes différenciés. Quelques produits sont commercialisés dans certains pays (Bioseed et Co.don ostéotransplant en Allemagne, Ostéocel aux Etats-Unis).

Une autre approche consiste à transférer un gène à la cellule par thérapie génique. Soit on prélève des cellules de l'individu à laquelle on transfert le gène par un vecteur (viral ou non viral) en dehors de l'organisme et on les réinjecte (thérapie ex-vivo), soit le vecteur est injecté directement dans le tissu cible (thérapie in-vivo).

A partir de la thérapie génique des études ont permis d'exprimer un seul facteur tels que Ad-BMP7, Ad-PDGF ou BMP2-ADNc, qui ont induit une ostéogénèse.

On utilise aussi l'interaction de plusieurs gènes pour palier au problème de « un seul facteur exprimé à un seul moment » : on peut combiner des BMP ce qui améliore l'ostéogénèse, associer un facteur angiogénique (VEGF) qui renforce l'ostéogénèse, ou associer un facteur de transcription ostéogénique (Runx2) qui améliore l'activité ostéogénique des CSM.

Toutes ces études nous ouvrent la voie sur le développement de nouvelles stratégies de régénération parodontale sans avoir à prélever de l'os au patient ou utiliser de l'os animal.

Les BMP ont un fort pouvoir ostéoinducteur. Qu'elles soient utilisées en tant que rhBMP sur un support de collagène ou que leur gène soit injecté dans les cellules du patient pour agir localement, les études ont montré que leur utilisation améliorait la régénération osseuse. Elles sont déjà commercialisées aux Etats-Unis.

L'augmentation de la régénération osseuse a également été montrée pour rhPDGF. Il est lui aussi commercialisé aux Etats-Unis.

La thérapie génique n'en est qu'à ces débuts mais donne déjà de très bons résultats. Elle utilise les BMP et PDGF, que l'on peut combiner à des facteurs potentialisant leur action.

Ces nouvelles approches biologiques de la régénération parodontale sont en plein essor et l'on peut penser que bientôt de nouveaux produits vont faire leur apparition sur le marché français.

BIBLIOGRAPHIE

1. Anagnostou F,Hayoun JP. Valeur biologique et nouvelles orientations dans l'utilisation des matériaux de substitution osseuse. J Parodontol Implantol Oral 2000;19:317-343.

2. Aldinger G, Herr G, Küsswetter W, Reis HJ, Thielemann FW, Holz U. Bone morphogenetic protein. Int Orthop 1991;15:169-177.

3. Bateman J, Intini G, Margarone J, Goodloe S, Bush P, Lynch SE, Dziak R. Platelet-derived growth factor enhancement of two alloplastic bone matrices. J Periodontol 2005;76:1833-1841.

4. Bauer DC, Mundy GR, Jamal SA, Black DM, Cauley JA, Ensrud KE, Van der Klift M, Pols HAP. Use of statins and fracture: results of 4 prospective and cumulative meta-analysis of observational studies and controlled trials. Arch Intern Med 2004;164:146–152.

5. Bessho K, Kusumoto K, Fujimura K, Konishi Y, Ogawa Y, Tani Y, Iizuka T. Comparison of recombinant and purified human bone morphogenetic protein. J Oral Maxillofac Surg 1999;37:2-5.

6. Bosshardt DD. Biological mediators and periodontal regeneration: a review of enamel matrix proteins at the cellular and molecular levels. J Clin Periodontol 2008;35:87-105.

7. Boyan BD, Weesner TC, Lohmann CH, Andreacchio D, Carnes DL, Dean DD, Cochran DL, Schwartz Z. Porcine fetal enamel matrix derivative enhances bone formation induced by demineralized freeze dried bone allograft in vivo. J Periodontol,2000;71:1278-1286.

8. Boyapati L, Wang HL. The role of platelet-rich plasma in sinus augmentation: a critical review. Implant Dent 2006;15:160-170.

9. Boyne PJ, Lilly LC, Marx RE, Moy PK, Nevins M, Spagnoli DB, Triplett RG. De novo bone induction by recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) in maxillary sinus floor augmentation. J Oral Maxillofac Surg 2005;63:1693-1707.

10. Brookes SJ, Robinson C, Kirkham J, Bonass WA. Biochemistry and molecular biology of amelogenin proteins of developing dental enamel. Arch Oral Biol 1995;40:1-14.

11. Burkus JK, Transfeldt E, Kitchel SH. Clinical and radiographic outcomes of anterior lumbar interbody fusion using recombinant human bone morphogenetic protein-2. Spine 2002;27:2396-2408.

12. Buxton P, Edwards C, Archer CW, Francis-West P. Growth/differentiation factor-5 (GDF-5) and skeletal development. J Bone Joint Surg Am 2001;83:23-30.

13. Cancedda R, Mastrogiacomo M, Bianchi G, Derubeis A, Muraglia A, Quarto R. Bone marrow stromal cells and their use in regenerating bone. Novartis Found Symp 2003;249:133-143.

14. Chiron P. Bone morphogenic proteins. Conférence SOFCOT 2004;85:271-291. Elsevier ed.

15. Choukroun J, Dohana S, Dohanb A, Donsimonib JM, Gabrieleffa D, Fiorettia F, Dohan D. Platelet Rich Fibrin (PRF) : un nouveau biomatériau de cicatrisation. Implantodontie 2004;13:109-115.

16. Cochran DL, Jones AA, Lilly LC, Fiorellini JP, Howell H. Evaluation of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in oral applications including the use of endosseous implants: 3-year results of a pilot study in humans. J Periodontol 2000;71:1241-1257.

17. Cochran DL, Villar CC. Regeneration of periodontal tissues: guided tissue regeneration. Dent Clin North Am 2010;54:73-92.

18. Cohen RE, Mullarky RH, Nobel B, Comeau RL, Neiders ME. Phenotypic characterization of mononuclear cells following anorganic bovine bone implantation in rats. J Periodontol 1994;65: 1008-1015.

19. Ducy P, Zhang R, Geoffroy V, Ridall AL, Karsenty G. Osf2/Cbfa1: a transcriptional activator of osteoblast differentiation. Cell 1997;89:747-754.

20. Dunn CA, Jin Q, Taba M, Franceschi RT, Bruce Rutherford R, Giannobile WV. BMP gene delivery for alveolar bone engineering at dental implant defects. Mol Ther 2005;11:294-299.

21. Emecen P, Akman AC, Hakki SS, Hakki EE, Demiralp B, Tözüm TF, Nohutcu RM. ABM/P-15 modulates proliferation and mRNA synthesis of growth factors of periodontal ligament cells. Acta Odontol Scand 2009;67:65-73.

22. Fiorellini JP, Howell TH, Cochran D, Malmquist J, Lilly LC, Spagnoli D, Toljanic J, Jones A, Nevins M. Randomized study evaluating recombinant human bone morphogenetic protein-2 for extraction socket augmentation. J Periodontol 2005;76:605-613.

23. Franceschi RT, Wang D, Krebsbach PH, Rutherford RB. Gene therapy for bone formation: in vitro and in vivo osteogenic activity of an adenovirus expressing BMP7. J Cell Biochem 2000;78:476-486.

24. Franceschi RT, Yang S, Rutherford RB, Krebsbach PH, Zhao M, Wang D. Gene therapy approaches for bone regeneration. Cells Tissues Organs 2004;176:95-108.

25. Friedlander GE et al. Osteogenic protein -1 (bone morphogenetic protein-7) in the treatment of tibial nonunion. J Bone Joint Surg 2001;83A:151-158.

26. Giannobile WV, Anusaksathien O. Growth factor delivery to re-engineer periodontal tissues. Curr Pharm Biotechnol 2002;3:129-139.

27. Giannobile WV, Ryan S, Shih MS, Su DL, Kaplan PL, Chan TC. Recombinant human osteogenic protein-1 (OP-1) stimulates periodontal wound healing in class III furcation defects. J Periodontol 1998;69:129-137.

28. Govender S et al. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 for treatment of open tibial fractures: a prospective, controlled, randomized study of four hundred and fifty patients. J Bone Joint Surg Am 2002;84-A:2123-2134.

29. Govender S, Csimma C, Genant HK, Valentin-Opran A. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 for treatment of open tibial fractures: a prospective, controlled,

randomized study of four hundred and fifty patients. J Bone Joint Surg Am 2002;84-A:2123-2134.

30. Gutierrez MA, Mellonig JT, Cochran DL. Evaluation of enamel matrix derivative as an adjunct to non-surgical periodontal therapy. J Clin Periodontol 2003;30:739-745.

31. Gutwald R, Haberstroh J, Stricker A, Rüther E, Otto F, Xavier SP, Oshima T, Marukawa E, Seto I, Enomoto S, Hoogendijk CF, Schmelzeisen R, Sauerbier S. Influence of rhBMP-2 on bone formation and osseointegration in different implant systems after sinus-floor elevation. An in vivo study on sheep. J Craniomaxillofac Surg 2010;38:571-579.

32. Hammarstrom L. Enamel matrix, cementum development and regeneration. J Clin Periodontol 1997;24:658-668.

33. Hanai J, Chen LF, Kanno T, Ohtani-Fujita N, Kim WY, Guo WH, Imamura T, Ishidou Y, Fukuchi M, Shi MJ, Stavnezer J, Kawabata M, Miyazono K, Ito Y.Interaction and functional cooperation of PEBP2/CBF with Smads. Synergistic induction of the immunoglobulin germline Calpha promoter. J Biol Chem 1999;274:77-82.

34. Hatakeyama Y, Tuan RS, Shum L. Distinct functions of BMP4 and GDF5 in the regulation of chondrogenesis. J Cell Biochem 2004;91:1204-1217.

35. Heard RH, Mellonig JT, Brunsvold MA, Lasho DJ, Meffert RM, Cochran DL. Clinical evaluation of wound healing following multiple exposures to enamel matrix protein derivative in the treatment of intrabony periodontal defects. J Periodontol 2000;71:1715-1721.

36. Howell TH, Fiorellini JP, Paquett DW, Offenbacher S, Giannobile WV, Lynch SE. A phase I/II clinical trial to evaluate a combination of recombinant human platelet-derived growth factor-BB and recombinant human insulin-like growth factor-I in patients with periodontal disease. J Periodontol 1997;68:1186-1193.

37. Huang YC, Kaigler D, Rice KG, Krebsbach PH, Mooney DJ. Combined angiogenic and osteogenic factor delivery enhances bone marrow stromal cell-driven bone regeneration. J Bone Miner Res 2005;20:848-857.

38. Itoh N, Kasai H, Ariyoshi W, Harada E, Yokota M, Nishihara T. Mechanisms involved in the enhancement of osteoclast formation by enamel matrix derivative. J Periodontal Res 2006;41:273-279.

39. Jiang D, Dziak R, Lynch SE, Stephan EB. Modification of an osteoconductive anorganic bovine bone mineral matrix with growth factors. J Periodontal 1999;69:303-313.

40. Jin D, Pei GX, Wang K, Wei KH, Chen B, Qin Y. The regulatory effect of human bone morphogenetic protein 7 gene transfer on the proliferation and differentiation of rabbit bone marrow mesenchymal stem cells. Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao 2003;25:22-5.

41. Jin Q, Anusaksathien O, Webb SA, Printz MA, Giannobile WV. Engineering of tooth-supporting structures by delivery of PDGF gene therapy vectors. Mol Ther 2004;9:519-526.

42. Jonk LJ, Itoh S, Heldin CH, ten Dijke P, Kruijer W. Identification and functional characterization of a Smad binding element (SBE) in the JunB promoter that acts as a transforming growth factor-beta, activin, and bone morphogenetic protein-inducible enhancer. J Biol Chem 1998;273:2145-2152.

43. Jortikka L, Marttinen A, Lindholm TS. Purification of monocomponent bovine bone morphogenetic protein in a water-soluble form. Ann Chir Gynaecol Suppl 1993;207:25-30.

44. Jung RE, Glauser R, Schärer P, Hämmerle CH, Sailer HF, Weber FE. Effect of rhBMP-2 on guided bone regeneration in humans. Clin Oral Implants Res 2003;14:556-568.

45. Kakudo N, Wang YB, Miyake S, Kushida S, Kusumoto K. Analysis of osteochondro-induction using growth and differentiation factor-5 in rat muscle. Life Sci 2007;81:137-143.

46. Katz J, Black KP, Michalek SM. Host responses to recombinant hemagglutinin B of Porphyromonas gingivalis in an experimental rat model. Infect Immun 1999;67:4352-4359.

47. Kawaguchi H, Hirachi A, Hasegawa N, Iwata T, Hamaguchi H, Shiba H, Takata T, Kato Y, Kurihara H. Enhancement of periodontal tissue regeneration by transplantation of bone marrow

mesenchymal stem cells. J Periodontol 2004;75:1281-1287.

48. Kawase T, Okuda K, Yoshie H, Burns DM. Cytostatic action of enamel matrix derivative (Emdogain) on human oral squamous cell carcinoma-derived SCC25 epithelial cells. J Periodontal Res 2000;35:291-300.

49. Komori T, Yagi H, Nomura S, Yamaguchi A, Sasaki K, Deguchi K, Shimizu Y, Bronson RT, Gao YH, Inada M, Sato M, Okamoto R, Kitamura Y, Yoshiki S, Kishimoto T. Targeted disruption of Cbfa1 results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts. Cell 1997;89:755-764.

50. Krauser JT, Rohrer MD, Wallace SS. Human histologic and histomorphometric analysis comparing OSTEOGRAF®/N with PepGen®P-15 in the maxillary sinus elevation procedure : A case report. Impl Dent 2000;9:298-302.

51. Lynch SE, Williams RC, Polson AM, Howell TH, Reddy MS, Zappa UE, Antoniades HN. A combination of platelet-derived and insulin-like growth factors enhances periodontal regeneration. J Clin Periodontol 1989;16:545-548.

52. Mah TF, Pitts B, Pellock B, Walker GC, Stewart PS, O'Toole GA. A genetic basis for Pseudomonas aeruginosa biofilm antibiotic resistance. Nature 2003;426:306-310.

53. Margolin MD, Cogan AG, Taylor M, Buck D, McAllister TN, Toth C, McAllister BS. Maxillary sinus augmentation in the non-human primate: a comparative radiographic and histologic study between recombinant human osteogenic protein-1 and natural bone mineral. J Periodontol 1998;69:911-919.

54. Marx RE, Carlson ER, Eischtae dt RM, Schimmerle SR, Srauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich-plasma-growth Factor enhancement for bone grafts. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1998;85:638-646.

55. McGuire MK, Kao RT, Nevins M, Lynch SE. RhPDGF-BB promotes healing of periodontal defects. Int J Periodontics Restorative Dent 2006;26:223-231.

56. McKay RD, Panchision DM, Pickel JM, Studer L, Lee SH, Turner PA, Hazel TG. Sequential actions of BMP receptors control neural precursor cell production and fate. Genes Dev 2001;15:2094-2110.

57. Melcher AH. On the repair potential of periodontal tissues. J Periodontol 1976;47:256-260.

58. Moghaden HG, Urist T, Sandor GK et al: Successful mandibular reconstruction using a BMP bio-implant. J Craniofac Surg 2001;12:119.

59. Montjovent MO, Burri N, Mark S, Federici E, Scaletta C, Zambelli PY, Hohlfeld P, Leyvraz PF, Applegate LL, Pioletti DP. Fetal bone cells for tissue engineering. Bone 2004;35:1323-1333.

60. Mundy G, Garrett R, Harris S, Chan J, Chen D, Rossini G, Boyce B, Zhao M, Gutierrez G. Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. Science 1999;286:1946-1949.

61. Nevins M, Camelo M, Nevins ML, Schenk RK, Lynch SE. Periodontal regeneration in humans using recombinant human platelet-derived growth factor-BB (rhPDGF-BB) and allogenic bone. J Periodontol 2003;74:1282-1292.

62. Nevins M, Giannobile WV, McGuire MK, Kao RT, Mellonig JT, Hinrichs JE, McAllister BS, Murphy KS, McClain PK, Nevins ML, Paquette DW, Han TJ, Reddy MS, Lavin PT, Genco RJ, Lynch SE. Platelet Derived Growth Factor (rhPDGF-BB) stimulates bone fill and rate of attachment level gain. Results of a large multicenter randomized controlled trial. J Periodontol 2005;76:2205-2215.

63. Okumura N, Yoshikawa T, Iida J, Nonomura A, Takakura Y. Bone formation-promoting effect of genistein on marrow mesenchymal cell culture. Biomed Mater Eng 2006;16:23-32.

64. Papadopoulos CE, Dereka XE, Vavouraki EN, Vrotsos IA. In vitro evaluation of the mitogenic effect of platelet-derived growth factor-BB on human periodontal ligament cells cultured with various bone allografts. J Periodontal 2003;74:451-457.

65. Park J, Lutz R, Felszeghy E, Wiltfang J, Nkenke E, Neukam FW, Schlegel KA. The effect on bone regeneration of a liposomal vector to deliver BMP-2 gene to bone grafts in peri-implant

bone defects. Biomaterials 2007;28:2772-2782.

66. Park YJ, Lee YM, Park SN, Sheen SY, Chung CP, Lee SJ. Platelet derived growth factor releasing chitosan sponge for periodontal bone regeneration. Biomaterials 2000;21:153-159.

67. Peng H, Wright V, Usas A, Gearhart B, Shen HC, Cummins J, Huard J. Synergistic enhancement of bone formation and healing by stem cell-expressed VEGF and bone morphogenetic protein-4. J Clin Invest 2002;110:751-759.

68. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science 1999;284:143-147.

69. Polimeni G, Xiropaidis AV, Wikesjö UM. Biology and principles of periodontal wound healing/regeneration. Periodontol 2000;41:30-47.

70. Raghoebar GM, Schortinghuis J, Liem RS, Ruben JL, van der Wal JE, Vissink A. Does platelet-rich plasma promote remodeling of autologous bone grafts used for augmentation of the maxillary sinus floor? Clin Oral Implants Res 2005;16:349-356.

71. Rahaman MN, Mao JJ. Stem cell-based composite tissue constructs for regenerative medicine. Biotechnol Bioeng 2005;91:261-284.

72. Ridgway HK, Mellonig JT, Cochran DL. Human histologic and clinical evaluation of rhPDGF and beta-tricalcium phosphate for the treatment of periodontal intraosseous defects. Int J Periodontics Restorative Dent 2008;28:171-179.

73. Sautier JM, Mora F, Bernheim H. Facteurs biologiques intervenant dans la régénération de l'os alvéolaire. J Parodontol 1993;12:237-245.

74. Schimming R, Schmelzeisen R. Tissue-engineered bone for maxillary sinus augmentation. J Oral Maxillofac Surg 2004;62:724-729.

75. Schliephake H, Knebel JW, Aufderheide M, Tauscher M. Use of cultivated osteoprogenitor cells to increase bone formation in segmental mandibular defects: an experimental pilot study in sheep. Int J Oral Maxillofac Surg 2001;30:531-537.

76. Schwartz Z, Carnes DL, Pulliam R, Lohmann CH, Sylvia VL, Liu Y, Dean DD, Cochran DL, Boyan BD. Porcine fetal enamel matrix derivative stimulates proliferation but not differentiation of pre-osteoblastic 2T9 cells, inhibits proliferation and stimulates differentiation of osteoblast-like MG63 cells, and increases proliferation and differentiation of normal human osteoblast NHOst cells. J Periodontol 2000;71:1287-1296.

77. Sculean A, Windisch P, Döri F, Keglevich T, Molnár B, Gera I. Emdogain in regenerative periodontal therapy. A review of the literature Fogorv Sz 2007;100:220-232,211-219.

78. Seeherman H, Wozney JM. Delivery of bone morphogenetic proteins for orthopedic tissue regeneration. Cytokine Growth Factor Rev 2005;16:329-345.

79. Sigurdsson TJ, Hardwick R, Bogle GC, Wikesjö UM. Periodontal repair in dogs: space provision by reinforced ePTFE membranes enhances bone and cementum regeneration in large supraalveolar defects. J Periodontol 1994;65:350-356.

80. Sigurdsson TJ, Lee MB, Kubota K, Turek TJ, Wozney JM, Wikesjö UM. Periodontal repair in dogs: recombinant human bone morphogenic protein-2 significantly enhances periodontal regeneration. J Periodontol 1995;66:131-138.

81. Simion M, Rocchietta I, Kim D, Nevins M, Fiorellini J. Vertical ridge augmentation by means pf deproteinized bovine bone block and recombinant human platelet derived growth factor-BB. Int J Periodontics Restorative Dent 2006;26:415-423.

82. Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing. N Engl J Med 1999;341:738-746.

83. Sollazzo V, Palmieri A, Girardi A, Farinella F, Carinci F. Early effects of P-15 on human bone marrow stem cells. J Oral Maxillofac Res 2010;1:e4.

84. Stephan EB, Renjen R, Lynch SE, Dziak R. Platelet-derived growth factor enhancement of a mineral collagen bone substitute. J Periodontol 2000;71:1887-1892.

85. Strietzel FP. Tissue-engineered bone for lateral alveolar ridge augmentation: a case report. Int J Oral Maxillofac Implants 2006;21:131-135.

86. Tang YC, Tang W, Tian WD, Chen XZ, Li SW. A study on repairing mandibular defect by means of tissue-engineering and human bone morphogenetic protein-2 gene transfection in osteoporotic rats. Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi 2006;41:430-431.

87. Tayapongsak P, O'Brien DA, Monteiro CB, Arceo-Diaz LY. Autologous fibrin adhesive in mandibular reconstruction with particulate cancellous bone and marrow. J Oral Maxillofac Surg 1994;52:161-165.

88. Terheyden H, Jepsen S, Möller B, Tucker MM, Rueger DC. Sinus floor augmentation with simultaneous placement of dental implants using a combination of deproteinized bone xenografts and recombinant human osteogenic protein-1. A histometric study in miniature pigs. Clin Oral Implants Res 1999;10:510-521.

89. Urist MR. Bone: formation by autoinduction. Science 1965;150:893-899.

90. Van den Bergh JP, ten Bruggenkate CM, Groeneveld HH, Burger EH, Tuinzing DB. Recombinant human bone morphogenetic protein-7 in maxillary sinus floor elevation surgery in 3 patients compared to autogenous bone grafts. A clinical pilot study. J Clin Periodontol 2000;27:627-636.

91. Wikesjö UM, Nilvéus R. Periodontal repair in dogs: effect of wound stabilization on healing. J Periodontol 1990;61:719-724.

92. Yang S, Wei D, Wang D, Phimphilai M, Krebsbach PH, Franceschi RT. In vitro and in vivo synergistic interactions between the Runx2/Cbfa1 transcription factor and bone morphogenetic protein-2 in stimulating osteoblast differentiation. J Bone Miner Res 2003;18:705-715.

93. Yilmaz S, Cakar G, Kuru B, Dirikan S, Yildirim B. Platelet-rich plasma in combination with bovine derived xenograft in the treatment of deep intrabony periodontal defects: a report of 20 consecutively treated patients. Platelets 2009;20:432-440.

94. Yoshimoto T, Yamamoto M, Kadomatsu H, Sakoda K, Yonamine Y, Izumi Y. Recombinant human growth/differentiation factor-5 (rhGDF-5) induced bone formation in murine calvariae. J Periodontal Res 2006;41:140-147.

95. Yukna RA, Callan DP, Krauser JT, Evans GH, Aichelmann-Reidy E, Moore K, Cruz R, Scott JB. Multi-center clinical evaluation of combination anorganic bovine-derived hydroxyapatite matrix (ABM)/cell binding peptide (P-15) as a bone replacement graft material in human periodontal osseous defects : 6-month results. J Periodontol 1998;69:655-66

96. Zhao M, Chen D, Mundy GR. Bone morphogenetic proteins. Growth Factors 2004;22:233-241.

97. Zhao Z, Zhao M, Xiao G, Franceschi RT. Gene transfer of the Runx2 transcription factor enhances osteogenic activity of bone marrow stromal cells in vitro and in vivo. Mol Ther 2005;12:247-253.

98. Zhu W, Rawlins BA, Boachie-Adjei O, Myers ER, Arimizu J, Choi E, Lieberman JR, Crystal RG, Hidaka C. Combined bone morphogenetic protein-2 and -7 gene transfer enhances osteoblastic differentiation and spine fusion in a rodent model. J Bone Miner Res 2004;19:2021-2032.

BEMER Marine – NOUVELLES APPROCHES BIOLOGIQUES DE LA RÉGÉNÉRATION PARODONTALE ET OSSEUSE

Nancy : 2011- 80 pages

Th. Chir -Dent : 2011

Mots-clés : Induction cellulaire
Facteurs de croissance
Génie génétique
Cellules souches mésenchymateuses
Thérapie génique

BEMER Marine – NOUVELLES APPROCHES BIOLOGIQUES DE LA RÉGÉNÉRATION PARODONTALE ET OSSEUSE

Nancy : 2011- 80 pages

Un défi s'impose au parodontologiste face à la parodontite : régénérer les tissus perdus, et notamment l'os. Depuis plusieurs années s'offrent à nous des thérapeutiques basées sur l'utilisation de greffes autologues ou de biomatériaux pour régénérer l'os détruit dans les lésions infra-osseuses. Mais ces techniques présentent certaines limites. Depuis peu, la découverte des mécanismes de la réparation a permis d'orienter les recherches vers de nouvelles approches de régénération parodontale faisant appel aux agents réparateurs : les molécules et les cellules. Au niveau moléculaire, ce sont les facteurs de croissance qui vont réguler les processus cellulaires et qui vont permettre de fabriquer de l'os. Au niveau cellulaire l'apport de cellules souches mésenchymateuses capables de se différencier ou d'exprimer un facteur de croissance par thérapie génique est une avancée considérable. Des produits utilisant ces nouvelles approches sont déjà commercialisés, mais pas encore en France. Ces thérapeutiques sont en plein essor et nous apportent une nouvelle vision de la régénération parodontale ; c'est pourquoi il est intéressant d'en faire l'état de l'art.

Jury :

Pr P.AMBROSINI	**Professeur des Universités**	**Président**
Dr N.Miller	**Maître de conférences des Universités**	**Directeur de thèse**
Dr C.BISSON	**Maître de conférences des Universités**	**Juge**
Dr J.M. MARTRETTE	**Maître de conférences des Universités**	**Juge**

Adresse de l'auteur : Marine BEMER
8 rue Gambetta
57000 METZ

Nancy-Université
Université Henri Poincaré

Faculté d'Odontologie

Jury : Président : P. AMBROSINI – Professeur des Universités
Juges : N. MILLER – Maître de Conférences des Universités
C.BISSON – Maître de Conférences des Universités
J.M.MARTRETTE– Maître de Conférences des Universités

Thèse pour obtenir le diplôme D'Etat de Docteur en Chirurgie Dentaire

Présentée par: **Mademoiselle BEMER Marine, Martine**

né(e) à: **NANCY (Meurthe-et-Moselle)** le **27 octobre 1986**

et ayant pour titre : **«Nouvelles approches biologiques de la régénération parodontale et osseuse.»**

Le Président du jury,

P. AMBROSINI

Le Doyen,
de la Faculté d'Odontologie

FACULTE DE CHIRURGIE DENTAIRE 96, av. de la Forêt de Haye
Le Doyen
Dr P. BRAVETTI
UNIVERSITE HENRI POINCARE - NANCY 1

P. BRAVETTI

Autorise à soutenir et imprimer la thèse 356 S

NANCY, le 15.03.2011

Le Président de l'Université Henri Poincaré, Nancy-1

UNIVERSITE HENRI POINCARE LE PRESIDENT

J-P. FINANCE

Pour le Président
et par Délégation,
La Vice-Présidente du Conseil
des Etudes et de la Vie Universitaire,

C. CAPDEVILLE-ATKINSON